

水産総合研究センター 研究報告

別冊 4

平成18年3月

BULLETIN OF FISHERIES RESEARCH AGENCY

Supplement No.4
March 2006

特別号

独立行政法人水産総合研究センターワークショップ
水産重要魚種の生殖機構と水温による影響
プロシーディング

Library
Pacific Islands Fisheries Science Center
Nat'l Marine Fisheries Service
2570 Dole St. Honolulu, HI 96822-2396
Received 7 July 2006

独立行政法人 水産総合研究センター
神奈川県横浜市
FISHERIES RESEARCH AGENCY
Yokohama, Kanagawa, Japan



Digitized by the Internet Archive
in 2026

序

魚類をはじめとする変温性の水生生物では、水温条件が生殖腺の発達や配偶子の形成・放出等の再生産に係わる重要なイベントを支配する要因であり、性分化にも決定的な影響を及ぼしうることが実験魚等を用いた研究から明らかにされている。一方、近年の地球温暖化やレジームシフト等に代表される水温変化は、水産資源の変動と深く関係すると考えられており、資源変動への影響やその機構の解明が急がれている。水産重要魚種においても成熟再生産過程が水温の影響を受けることは容易に想像されるが、従来の研究は、モニタリングやモデル作成等、現象把握や生態学的アプローチが主であり、実験的解析による機構の解明にまで踏み込んだ研究はほとんどなされていない。水温変動が水産重要魚種の再生産に及ぼす影響の実験的解析が今まで不十分であった原因としては、これらの魚種が飼育実験に不向きなものが多く、実際の研究に必要な期間、精密な飼育を続けることが容易ではないことが挙げられる。成熟や性分化への影響を生殖腺レベルで調べるには、生殖腺の発達に対応する長期間の飼育実験が必要であるし、実験魚と異なり、個体差によって精密な解析が困難になる恐れもある。一方、生殖上位中枢の活性や卵黄タンパク合成活性、性ステロイドホルモン活性等へのレスポンスについては、下位の生殖腺レベルよりも影響が迅速にかつ精密に反映される可能性が高い。また、ネックとなってきた親魚や仔稚魚の飼育実験に関しても、栽培漁業の進展等に伴って技術開発が著しく進みつつあり、水産重要魚種への適用を行う条件が整いつつある。しかしながら、実際に水産重要魚種を用いた精密な飼育実験を行うことは限られた分野の研究者のみでは不可能であり、重要魚種の生態、生殖生理、分子生物学、親魚飼育等多様な分野の専門家が密接に連携して立案、計画、実施等を行う必要がある。

このような背景を基に、中央水産研究所が中心となり平成16年度交付金プロジェクト研究 FS 課題「水温変動が魚種の再生産に及ぼす影響の実験的把握」を実施した。その一環として、平成16年12月に神奈川県川崎市においてワークショップ「水産重要魚種の生殖機構と水温による影響」が開催されて、様々な分野の研究発表及びそれに関する非常に活発な討議が行われ、また、異なった分野同士での有益な意見交換が活発に行われた。本特集号はそのワークショップの成果を取りまとめて既存知見の整理を行い、今後さらなる研究の発展に向けての提言を行うために刊行されたものである。

本特別号の構成は第1章：水温と魚種の成熟・性分化との関係、第2章：水温影響の実験例、第3章：生殖生理に関する研究手法と再生産研究高度化への応用、第4章：生殖生態に関する研究手法とフィールド調査の問題点、第5章：各魚種の具体的な生殖生態及び水温との関連、第6章：親魚飼育の具体例と将来構想となっている。それぞれの分野の最前線の研究者の方々に発表と執筆をお願いした。本書がこの研究分野の今後の発展の基礎となることを願っている。

平成17年12月15日

中央水産研究所所長

山田 久

水産総合研究センター研究報告

別冊第4号

平成18年3月

目次

序

第1章：水温と魚類の成熟・性分化との関係

魚類の生殖周期と水温等環境条件との関係

清水 昭男 1

環境水温と魚類の性分化との関係

山下 倫明・川口奈々美 13

サンゴ礁魚類を用いた魚類の性分化，性転換機構の形態学的，生理学的研究

中村 将・小林 靖尚・三浦さおり 19

ヒラメにおける生殖腺の性分化機構

北野 健 27

第2章：水温影響の実験例

大西洋マダラの成長と生殖に及ぼす環境の影響

米田 道夫 31

カタクチイワシの成熟・産卵特性から産卵調査を設計する

靄田 義成 41

特別寄稿：マイワシの成熟・産卵を追った10年

白石 学 49

第3章：生殖生理に関する研究手法と再生産研究高度化への応用

多獲性浮魚類の再生産研究高度化に向けての生殖生理学的手法の適用

松山 倫也 51

生殖生理に関する研究手法と水産重要魚種の再生産研究高度化への応用

清水 昭男 63

魚類の性成熟と生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン（GnRH）

天野 勝文 71

魚類の初回成熟

奥澤 公一 75

第4章：生殖生態に関する研究手法とフィールド調査の問題点

野外調査と飼育実験を併用した魚類の繁殖特性研究 栗田 豊	87
資源学的立場からみたマサバ太平洋系群の生殖生態研究の現状と問題点 渡邊千夏子	101

第5章：各魚種の具体的な生殖生態及び水温との関連

マアジとマイワシの繁殖生態 西田 宏	113
足摺岬周辺海域のゴマサバの成熟と水温 梨田 一也・三谷 卓美	119
キダイの生殖生態 米田 道夫・依田 真里	125
トラフグの産卵生態 柴田 玲奈・青野 英明・町田 雅春	131
マダラの生活史と繁殖生態－繁殖特性の年変化を中心に－ 成松 庸二	137

第6章：親魚飼育の具体例と将来構想

親魚飼育の具体例－マダラ 手塚 信弘	147
マアジの水槽内産卵について 岡 雅一・森 広一郎	151
養成クロマグロの産卵に及ぼす水温の影響 升間 主計・手塚 信弘・小磯 雅彦・新保 忠雄・武部 孝行・山崎 英雄・ 尾花 博幸・井手健太郎・二階堂英城・今泉 均	157
サンマの成熟過程の解明：飼育実験の果たす役割 巢山 哲・森岡 泰三・中屋 光裕・中神 正康・上野 康弘	173

魚類の生殖周期と水温等環境条件との関係

清水 昭男*

Environmental Regulations of Reproductive Cycles in Teleosts

Akio SHIMIZU*

Abstract This review summarizes the knowledge of environmental regulation of annual reproductive cycles in teleosts displaying various spawning periods. Warm temperature is the important factor which causes initiation of the spawning period in both of spring spawning and "spring-to-summer" spawning teleosts, and high temperature during summer is the predominant factor that causes termination of the spawning period in the spring spawning species. In the spring-to-summer spawning species, short daylength in autumn is the predominant factor that causes the termination of the spawning period. In autumn spawning teleosts, short daylength is the predominant factor that causes initiation of the spawning period, and low temperature during winter is the predominant factor that causes the termination. In summer spawning, spring and autumn spawning, and "winter-to-spring" spawning species, changes in water temperature seem to be the important factors for both initiation of and termination of the spawning period, although daylength might also be concerned in some cases. In several cases regardless of the types of the spawning period, internal factor such as circa-annual rhythm might be concerned with the environmental regulation, through changes in photoperiodism appearance and/or existence of a refractory period.

Key words: water temperature, photoperiod, maturation, reproduction, annual cycle, spawning period, refractory period, circa-annual rhythm

1. はじめに

真骨魚類（以下省略して「魚類」とする）は変温性の動物であり、種々の生理機能は環境水温の影響を大きく受ける。成熟再生産もその例外ではない。さらに成熟現象に関しては、水温の上昇が直接的に代謝の活発化を促すのみならず、水温変化が情報伝達のシグナルとして働き、上位中枢（脳や生殖内分泌系）を介して影響する場合が多いのが著しい特徴である。本総説では、魚類の成熟再生産（特に生殖周期）と環境条件（特に水温及び日長）との関係について概説する。

魚類は種類数の多さと、形態、生態、生理生化学等

様々な面での著しい多様性が特徴である。生殖現象も極めて多彩であり、水温等の影響に関してもこれらの多様性を十分に考慮する必要がある。水温条件との関係に関していえば、成熟再生産の多様性の中でも、産卵期を中心とした生殖年周期の多様性と1産卵期の間の産卵回数や産卵頻度（short reproductive cycle, 産卵リズム）の多様性が重要である。

2. 魚類の産卵期の多様性

魚類の産卵期は極めて多様性に富んでおり、ほぼ全ての四季にわたっているが、以下の各型に大別して考え

るのが適切である。

1) 春(～初夏)産卵型

春期に生殖腺が急速に発達して産卵し、春の終わりまたは初夏まで産卵を続けるが、盛夏になる前に産卵を終了する。温帯産淡水魚の多くがこの中に含まれる。温帯性海産魚にも例は多い。アカヒレタビラ *Acheilognathus tabira* subsp. やホンモロコ *Gnathopogon elongatus*, キンギョ *Carrassius auratus* 等に代表される多くの温帯性コイ科魚類, マダイ *Pagrus major*, クロダイ *Acanthopagrus schlegeli*, ヒラメ *Pararichthys olivaceus*, マサバ *Scomber japonicus*, マアジ *Trachurus japonicus*, イトヨ *Gasterosteus aculeatus* 等が挙げられる。アカヒレタビラ(関東地方)では、4月下旬に産卵期が始まり、6月下旬に終了する(清水と羽生, 1981)。分布の広い種類においては、中緯度地方で春期に産卵するものが、低緯度地方では冬期のうちから産卵を開始する場合(マアジ等)もある。また、冷水域においては、温水域では春産卵型に分類される魚の産卵期が遅れ、初夏から盛夏に産卵することもある(ヒラメ等)。

2) 春夏産卵型

春、水温が上昇すると生殖腺が急速に発達して産卵し、盛夏に入っても産卵を続け、晩夏または初秋に産卵を終了する。メダカ *Orizias latipes*, バラタナゴ *Rhodeus ocellatus*, マミチヨグ *Fundulus heteroclitus*, アミメハギ *Rhudarodes ercoides*, チチブ *Tridentiger obscurus* 等が挙げられる。バラタナゴ(関東地方)では3月下旬に産卵期が始まり、9月上旬に終了する(朝比奈ら, 1980)。また、相模湾産カタクチイワシ *Engraulis japonicus* では、産卵期は4月中旬に始まり、10月上旬に終了する(鶴田, 1992)。

3) 夏産卵型

温水域においても、最も水温の高い盛夏を中心に産卵する。シロギス *Sillago japonica*, ウロハゼ *Glossogobius olivaceus* 等。シロギス(浜名湖)では、産卵期は5月中旬に始まり、10月初めまで継続する(古川, 1991)。

4) 秋産卵型

ほぼ秋に限って産卵する。アユ *Plecoglossus altivelis*, 大部分のサケマス類, キチヌ *Acanthopagrus latus*, チダイ *Evynnis japonica*, ゼニタナゴ *Pseudoperilampus typus*, カネヒラ *Acheilognathus rhombeus*, アイナメ *Hexagrammos otakii*, クジメ *Hexagrammos agrammus*, ボラ *Mugil cephalus* 等が挙げられる。ゼニタナゴ(関東地方)では9月下旬に産卵期が始まり、11月下旬に終了する(中村, 1969; 清水, 未発表)。また、カネヒラでは当歳魚(0+; 前年の繁殖期に生まれ

た個体において、誕生からその年の繁殖期が終了するまで。以降同様)の産卵期は9月上～中旬に始まって11月下旬～12月に終了し、産卵期間がやや長いことを除けばゼニタナゴと同様である。しかしながら、カネヒラ1歳魚(1+)の産卵期は7月下旬より始まり、当歳魚よりも1ヶ月以上早い(この両種とも、天然では2歳を越えて生存する個体はほとんどいないものと考えられているが、飼育下での生存個体の観察例では2歳魚(2+)の産卵期も1歳魚と同様である)。一方、カネヒラ1歳魚の産卵期の終了時期は当歳魚と同様である(Shimizu et al., 1987)。

5) 春秋産卵型

春に産卵後、盛夏に産卵を中断して再び秋に産卵を行う。淡水魚ではほとんど知られていないが、海水魚には広く存在する可能性がある。典型的なものはトビヌメリ *Repomucenus beniteguri*。キダイ *Dentex tumifrons* もこの型と考えられていたが、盛夏の中断がない可能性もある(米田と依田, 2006)。トビヌメリ(浜名湖)では、産卵は5月上旬に始まり、7月半ばまで続く。その後、8月にはほとんど産卵がみられないが、9月に入ると産卵が再開され、11月下旬まで続く(Zu et al., 1989)。

6) 冬～春産卵型

冬から早春にかけて産卵する魚は、純粋な淡水魚には少ないが、海水魚にはかなり存在し、特に寒流系の魚には多い。産卵期自体は春産卵型と重なることがあるが、この型では産卵期に先立つ生殖腺の急速な発達が晩秋から厳冬期にかけて起こることが特徴。ワカサギ *Hypomesus nipponensis*, アゴハゼ *Chasmichthys dolichognathus*, ウキゴリ *Chaenogobius urotaenia*, イサザ *Chaenogobius isaza*, マイワシ *Sardinops melanostictus*, マダラ *Gadus macrocephalus*, スケトウダラ *Theragra chalcogramma*, スズキ *Lateolabrax japonicus* 等がある。異体類の多く(マコガレイ *Pleuronectes yokohamae* 等)もこの型である。アゴハゼ(相模湾)では、12月～翌年1月にかけて生殖腺の急速な発達が起こり、2月～5月にかけて産卵するが、6月には生殖腺は完全に退縮している(金子ら, 1984)。

7) 周年産卵型

熱帯産の多くの魚類。亜熱帯産魚類や暖流性海産魚の一部にも存在する可能性がある。

8) その他の型

これらの範疇に当てはまらない魚種も存在する。例えばサンマ *Colorabis saira* は秋から翌年の春までという非常に長い産卵期を示す。

3. 産卵回数、産卵頻度の多様性

魚類においては産卵回数も非常に多様性に富んでおり、一生に1回しか産卵しないものから、数ヶ月以上の間、毎日産卵を続けるものもある。

1回：一生に1回産卵した後死亡する。シロザケ *Onchorhynchus keta*, カラフトマス *Onchorhynchus gorbusha* 等。

年1回：ニジマス *Onchorhynchus mykiss*, ヤマメ *Onchorhynchus masou* 等。

月周期、半月周期：特定の月齢に合わせて産卵を行う。月周期に関連する潮汐リズムに対応した産卵生態を持つものも多い。クサフグ *Takifugu niphobles*, Atlantic silverside *Menidia menidia*, グルニオン *Leuresthes tenuis* 等。また、この型の中には、特定の月齢に対して各1回のみ産卵を行うものと、特定の月齢の前後の数日間連続して産卵を行うものがあると考えられる。

多回産卵（少数回、不規則）：産卵期に複数回の産卵を行うが、2から3回程度と少なく、明確に産卵リズムと言えるほどの周期性が認められない。キンギョ等。この型では生殖腺の発達が完了しても直ちには産卵せずに、環境変化が最終成熟の引き金になって産卵する場合も多く、このことが産卵間隔の不規則さにつながっていることがある。

多回産卵（周期的）：数日周期のリズムで産卵を長期間繰り返す。タナゴ類、アミメハギ、チチブ等。

毎日産卵：周期的多回産卵に含まれるが、頻度が高く、盛期には毎日産卵する。産卵期の初期や末期には数日おき産卵をするものが多いと考えられる。メダカ、シロギス、マダイ、カタクチイワシ等。

4. 産卵期と環境条件との関係

一般に温帯産の魚類の産卵期は水温によって強い支配を受けていることが多いが、日長条件も重要であり、それらの関与は魚種や季節によって異なる。産卵期の決定機構を中心とした生殖現象と環境条件との関係を明らかにするためには、対象魚種の生殖年周期を詳細に調べて成熟に関する様々な現象（生殖腺の発達・退縮、成熟の段階性、産卵期の開始及び終了等）が起こる時期を正確に調べることが前提条件として重要である。続いて、それら様々な現象に対応する季節において、特定の水温条件と日長条件を組み合わせた実験区を多数作り、長期間（1ヵ月あるいはそれ以上）飼育して成熟への影響を調べることで解析する。しかしながら、このような研究は大型魚や飼育の困難な魚では難しく、現在のところ、解析が本格的になされて

きたのは淡水魚及び小型沿岸魚にほとんど限定されている。

1) 春産卵型、春夏産卵型

春産卵型及び春夏産卵型の温水魚の種類は多く、実験的解析がなされたものも少なくない（キンギョ、ホンモロコ、アカヒレタビラ、バラタナゴ等のコイ科魚類、イトヨ、メダカ、アミメハギ、チチブ、マミチョグ等）。

特に詳しく解析されているのは春産卵型のアカヒレタビラと春夏産卵型のバラタナゴ及びマミチョグであり、ここでは著者らが解析したアカヒレタビラとマミチョグの例を主に、バラタナゴの例も交えて紹介する。

(1) アカヒレタビラ及びバラタナゴ

(a) 産卵期の開始要因

アカヒレタビラは生殖腺の発達に段階制がみられ、初期段階の生殖腺発達は秋～冬期に起こる。3月～4月前半にかけて生殖腺が急速に発達し（雌における卵黄球の蓄積と雄における精細胞及び精子の形成；後期の生殖腺発達）、4月下旬から産卵期に入る。生殖腺発達直前の2月下旬から、水温条件8～16℃、日長条件9 L, 11L及び15 Lの各条件を組み合わせ2ヵ月間飼育すると、日長にかかわらず16℃の条件で生殖腺が発達し、産卵に至った。このことから、本種の産卵期開始は春期の水温上昇に起因することが明らかとなった（Shimizu and Hanyu, 1982）。また、その際の臨界温度は12℃と14℃の間にあることも示された（清水, 1983）。

バラタナゴの場合も、臨界温度がやや低いことを除き同様な結果が得られている（Asahina and Hanyu, 1983）。

(b) 産卵期の終了要因

アカヒレタビラは6月後半には生殖腺の退行が始まり、7月に入ると産卵期は完全に終了する。そこで、生殖腺退行前の5月下旬から水温22～30℃、日長8 L, 12 L, 及び15 Lの各条件を組み合わせた条件で1ヵ月弱飼育すると、22℃では日長にかかわらず生殖腺の退行がほとんど起こらなかったのに対して、30℃では日長にかかわらず生殖腺が急速に退行した。従って、本種の産卵期終了要因は夏季の高水温であると結論された（Shimizu and Hanyu, 1982）。また、その際の臨界温度は24℃と26℃との間にあった（清水, 1983）。

一方、バラタナゴにおいては、アカヒレタビラのような高水温による生殖腺退縮は認められていない（Asahina and Hanyu, 1983）。

(c) 初期段階生殖腺発達の開始要因(アカヒレタビラ)

本種は8月から9月上旬にかけてが最も未熟である

が、秋期から冬期にかけて生殖腺が徐々に発達し、雌では卵黄胞期卵母細胞の発達が、雄では精原細胞の増殖と精母細胞の形成が起こる（初期段階の生殖腺発達）。生殖腺発達が起こる直前の9月上旬より水温22または27°C、日長11Lまたは15Lの各条件で約1ヵ月半飼育した。その結果、22°Cでは日長にかかわらず初期段階の生殖腺発達が進んだが、27°Cでは日長にかかわらず未熟なままであった。従って初期段階生殖腺発達の開始要因は秋期の水温低下であると結論できる（Shimizu and Hanyu, 1982）。この場合の臨界温度はほぼ26°Cであった（清水, 1983）。

(d) 秋期成熟の抑制要因

盛夏の未熟な時期を過ぎ、秋に入ると水温は低下してアカヒレタビラの成熟に好適な水温（14~24°C）となるが、この時期には生殖腺発達は初期段階に留まり、それ以上の生殖腺発達や産卵は起こらない。この阻害要因を解析するため、アカヒレタビラを10月より水温16または22°C、日長11または15Lの条件を組み合わせ飼育すると、水温にかかわらず日長15Lの区で成熟が進み、産卵に至った。従って、アカヒレタビラにおける秋期成熟の抑制要因は秋の短日であると結論できる（Shimizu and Hanyu, 1982）。

秋期のバラタナゴにおいても長日による成熟促進と短日による成熟抑制が認められているが、この種の場合は秋期は生殖腺が退縮して産卵期が終了する時期にあたり、秋の短日が産卵期の終了要因であると結論できる（Asahina and Hanyu, 1983）。

(e) 光周性の発達及び衰退とその要因

上述のように、アカヒレタビラ及びバラタナゴは春期には成熟の光周性（photoperiodism；生物が日長に反応する性質）をほとんど示さず、秋期には顕著な光周性を示す（Shimizu and Hanyu, 1991；Asahina and Hanyu, 1985）。従って、1年の中で光周性の発達と衰退が交互に起こるものと考えられる。この光周性発達または衰退のための要因として、冬期及び夏期に現われ得る様々な環境要因を想定してアカヒレタビラの飼育実験を行ったが、冬期及び夏期の水温及び日長条件はいずれも無関係であることが判明した（Shimizu and Hanyu, 1993）。ほとんど唯一可能性のある要因は内的因子（自律的に光周性の発達と衰退が起こる）である。内的因子のうち、最も蓋然性の高いものとしては生殖概年周期（circa-annual rhythm）が挙げられる（概年周期とは、よく知られている概日周期（circadian rhythm）と同様に体内で自発的に現れる周期であって、概日周期はその長さがおよそ1日であるが、概年周期ではおよそ1年になる。恒常的条件下で生物を長期間飼育した場合に周期がほぼ1年の

変化が起これば概年周期に起因する可能性が高い。哺乳類及び鳥類でよく知られており、爬虫類や魚類の他、昆虫等無脊椎動物や植物でも報告があるが、そのメカニズムはほとんどわかっていない（富岡ら, 2003））。Fig. 1に光周性の発達と衰退が概年周期によって交代すると仮定した場合の、アカヒレタビラの生殖年周期の調節機構を示す。概年周期の存在を確実に証明することは困難であり、現在のところ仮説の域を出ないが、近年、他の魚種においても生殖概年周期の存在の可能性が示されていることもあり（Baggerman, 1985; Bromage and Duston, 1987; Duston and Bromage, 1986,87; Sundararaj *et al.*, 1973）、最も適当なモデルと考えている。

(2) マミチョグ

マミチョグは北米東海岸に広く分布するカダヤシ目広塩魚である。チェサピーク湾原産のマミチョグを環境条件の類似した三浦半島荒崎の屋外池にて飼育したところ、産卵期は3月下旬から8月（1歳魚以上）及び3月下旬~7月下旬（当歳魚）であり、産卵盛期には毎日産卵した（Shimizu, 1997）。この魚を用いて、生殖年周期の調節機構を解析した。

(a) 産卵期の開始要因

2月上旬よりマミチョグを水温7~16°C、日長11Lまたは16Lで1ヵ月半飼育した。その結果、水温16°Cの両区で日長にかかわらず成熟（後期段階の生殖腺発達；雌における卵黄球の蓄積と雄における活発な精子形成）が急速に進行して産卵に至った。従って、本種の産卵期開始には、水温上昇が主要因になっていると考えられる。しかしながら、後期段階生殖腺発達の臨界温度は雄で7~11°Cの間、雌で11°C付近にあることも示された（Shimizu, 2003）。荒崎においては自然水温が11°Cを下回することはほとんどなく、にもかかわらず明瞭な産卵期が認められたことから、生殖腺発達開始の要因を水温上昇のみに帰することは出来ない。恐らく、生殖概年周期に代表される内的因子が関与しているものと考えられる。

(b) 産卵期の終了要因

6月より、マミチョグ当歳魚を、水温22~30°C、日長9L~16Lの条件を組み合わせ飼育した。その結果、日長9Lまたは13Lでは、水温にかかわらず生殖腺が著しく退縮して産卵期が終了した。従って、産卵期終了の要因の一つとして短日が挙げられる。しかしながら、30°C16Lの条件でも生殖腺は顕著に退縮し、22°C16Lの条件でも退縮が認められたため、高水温や自律的な生殖腺退縮も関与しているものと考えられる（Shimizu, 2003）。一方、1歳魚について同様の

実験を行うと、22℃13Lの条件では生殖腺が速やかに退縮したのに対して、22℃16L及び30℃16Lの条件では退縮がほとんど起こらず、産卵が維持された。従って、1歳魚においては、ほぼ短日条件のみによって産卵期が終了しているものと結論される (Shimizu, 2003)。2歳魚以上に関しても産卵期がほぼ同一であることから、同様のメカニズムが考えられる。

(c) 初期段階生殖腺発達開始要因

本種はアカヒレタビラと同様に生殖腺発達の段階性がみられる。雌雄の生殖腺は8月下旬から9月上旬にかけてが最も未熟であるが、秋期から冬期にかけて徐々に発達し、雌では卵黄胞期卵母細胞の発達が、雄では精原細胞の増殖と精母細胞の形成が起こる (初期段階の生殖腺発達)。これらの生殖腺発達が起こる直前の9月中旬より日長11L、水温16～30℃の条件で約2ヵ月飼育した。その結果、30℃及び26℃ではほとんど成熟が進まなかったが、22℃以下の温度では初期段階の生殖腺発達が進み、その程度は水温が低い方が顕著であった。従って初期段階生殖腺発達の開始要因は秋期の水温低下であると結論できる (Shimizu, 2003)。

(d) 秋期成熟の抑制要因

マミチョグを10月中旬より、水温16または22℃、日

長11または16Lの条件を組み合わせる2ヵ月余り飼育したところ、22℃では日長にかかわらず生殖腺の発達が全く起こらなかった。従って、本種は秋期から初冬にかけて不応期 (refractory period: 繁殖期の直後などにしばしば現れる、成熟に好適な環境条件下でも成熟がほとんど進行しない時期; Harrington, 1957; Yoshioka, 1966) にあることが明らかとなった。16℃では長日区の雄でわずかに成熟が進んだ。このことは、やや低い水温での長期飼育によって不応期からの離脱が部分的に起こっている可能性を示唆する (Shimizu, 2003)。

(e) 生殖概年周期

未熟なマミチョグを10月中旬より22℃16Lの条件下で長期間飼育した。その結果、恒常的条件にかかわらず、春に生殖腺が発達して夏の間成熟状態を維持し、秋に生殖腺が退縮して冬の間未熟に留まるリズムを示した (Shimizu, 2003)。厳密な証明は困難であるが、この現象は生殖概年周期の発現と考えるのが妥当である。この概年周期に基づいて、早春における生殖腺発達の開始や、当歳魚における早期の産卵期終了、秋期における不応期の出現等、自律的な生殖関連現象が起こっている可能性が高い。

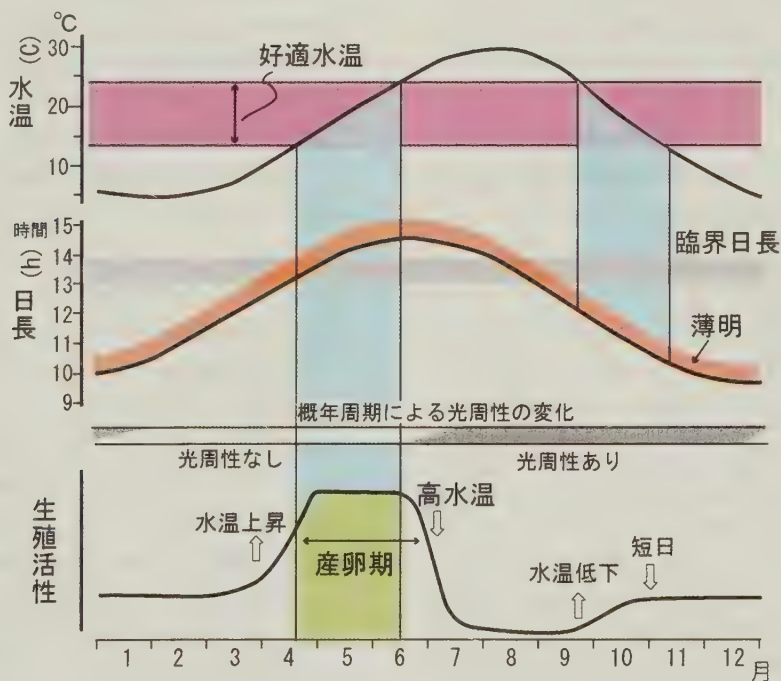


Fig. 1. 概年周期によって光周性の有無が交替すると仮定した場合の、アカヒレタビラ生殖年周期の調節機構。向上きの矢印は成熟の促進要因、下向き矢印は抑制要因を示す。成熟に好適な水温 (14～24℃) は1年に2回 (春と秋) 現れるが、秋には顕著な光周性があり、しかも成熟の臨界日長以下のため、成熟が抑制されて後期の生殖腺発達は起こらない。春の場合は、光周性がほとんど消失しており、水温が上昇して適水温付近に達すると後期の生殖腺発達が急速に進んで産卵期に入る。夏になって水温が適水温を超えると生殖腺が退縮して産卵期が終了する。

(f) マミチョグにおけるまとめ

マミチョグの生殖年周期とその成立要因に関するまとめをFig. 2に示した。このようにマミチョグにおいても、アカヒレタビラやバラタナゴと同様、春の水温上昇と晩夏～秋の短日が生殖年周期の成立に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。タナゴ類との相違は、秋期における不応期の存在と、生殖概年周期の役割である。春及び春夏産卵型タナゴ類では、生殖概年周期は直接的に成熟を支配するというよりも、光周性の発達と衰退を通じて間接的に生殖年周期の成立に関与していると考えるのが妥当であるが、マミチョグでは、上記のとおり生殖腺発達や退縮、不応期の出現等に対する、より直接的な支配が考えられる。

(3) 春産卵型及び春夏産卵型魚類全体への一般化

続いて、これら3魚種の結果がどの程度一般化できるかが問題となる。上記の結果とキングヨ (Razani *et al.*, 1988a,b), ホンモロコ (Okuzawa *et al.*, 1989), モツゴ (朝比奈ら, 1985), golden shiner *Notemigonus crysoleucas* (de Vlaming, 1975) 等のコイ科魚類, イトヨ (Baggerman, 1972, 1985; Borg, 1982; Borg and van Veen, 1982), メダカ (Awaji and Hanyu, 1988, 1989), カダヤシ (Koya and Kamiya, 2000), アミメハギ (Lee *et al.*, 1984), チチブ (金子,

1986) 等で得られた結果とをまとめて以下に示す。また、カタクチイワシに関しては本特集号 (鶴田, 2006) で述べられており、鶴田 (1992) にも詳述されているのでここでは省略する (この種の場合も下記のまとめに対して特に相違点は認められない)。

(a) 産卵期の開始要因

春産卵魚及び春夏産卵魚の産卵期開始に関しては、水温の上昇が主要因であるという解析結果と、日長の増加が主要因であるという解析結果とがあるが、後者の結論が得られた実験は設定または解釈に問題のあることが多い。主として古い研究に認められる主要な問題点は以下の3つである。1. 日長に対する反応性の季節変化 (アカヒレタビラで認められた光周性の発達と衰退等) を考慮していない。2. 極端な日長条件 (0Lや24L) の設定とそれに基づく結論。3. その季節の自然条件から著しくはずれた条件を設定した実験による結論。これらの問題点を考慮して精密に設計された実験においては、いずれも産卵期の開始には水温の上昇が成熟促進に働くことが示されており、基本的には、温水性の春産卵魚、春夏産卵魚に関しては、水温の影響が重要であると考えられる。魚種 (アミメハギ, モツゴ等) によっては日長の増加の影響も加わりうる。

(b) 産卵期の終了要因

産卵期終了に関しては、春産卵魚において高水温により生殖腺の退行が著しく促進され、産卵期終了の主要因となっていると考えられる。一方、春夏産卵魚においては、高水温による生殖腺の退行があまり起こらず、これが産卵期の盛夏への延長に関係している。この場合、産卵期の終了は一般に秋期の短日によって誘導される。

(c) 秋期成熟の抑制要因

秋期は水温条件としては春産卵魚の成熟には好適であるが、実際にはこの時期には成熟・産卵は起こらない。春産卵魚は秋期において顕著な光周性を示すか (長日で成熟促進, 短日で抑制) または不応期に入っていることが多く、これが、春産卵魚の秋期成熟を抑制する要因になっている。春期の生殖腺発達に関する水温条件の重要性と秋期における顕著な光周性または不応期の存在は多くの春～春夏産卵型の魚類に共通すると考えられ、また、それらの出現や衰退には生殖概年周期が関与している可能性がある。

(d) 生殖概年周期等

三浦半島におけるマミチョグと同様、春産卵型の一部の魚においては水温の明らかな上昇以前に生殖腺発達が起こると考えられるものがあり、やはり生殖概年周期が関与している可能性が高い。また、一部のコイ科魚類で光周性の発現に関する水温依存性 (高水温で

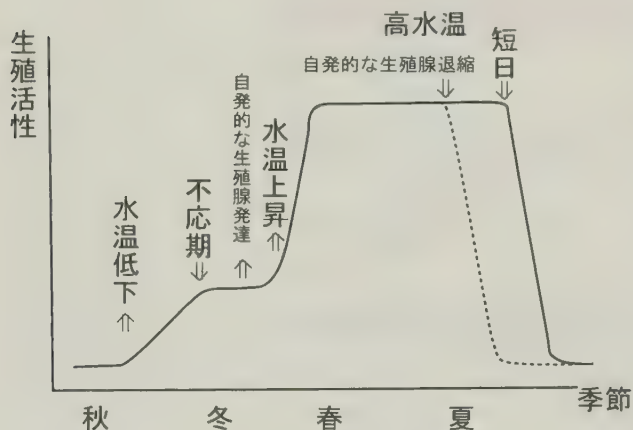


Fig. 2. マミチョグの生殖年周期の成立機構のまとめ。上向きの矢印は成熟の促進要因, 下向きの矢印は抑制要因を示す。早春に、恐らく自律的に後期段階の生殖腺発達の引き金がかかるが、本格的な成熟進行は春期の水温上昇による。1歳魚以上 (実線) の場合は晩夏の短日条件によって生殖腺が退縮して産卵期が終了する。当歳魚 (点線) の場合は、夏の高水温や自律的な退縮も働き、1歳魚以上よりも約一ヶ月早く産卵期が終了する。9月の上～中旬が生殖腺が最も未熟であり、初秋になって水温が低下すると初期の生殖腺発達が徐々に進むが、それ以降は不応期に相当するため、後期の生殖腺発達は進まない。

光周性が顕著になり、低水温でははっきりしない）が報告されているが（de Vlaming, 1974; Okuzawa *et al.*, 1989; Razani *et al.*, 1988a, b), 同様の結果はマミチヨグにおいても得られており（清水, 未発表), かなり普遍的な現象である可能性がある。ただしアカヒレタビラではこのような水温依存性はほとんど認められていない。また、春産卵魚及び春夏産卵魚においては生殖腺発達に段階性が認められることが多く、生殖腺発達の初期段階と後期段階では関与する環境要因が全く異なっていることがあり（アカヒレタビラ, イトヨ等), 実験結果の解釈上注意すべき事項である。

2) 夏産卵型

このタイプでは成熟に好適な水温がかなり高い範囲にあり、主として水温によって産卵期の開始と終了が支配されているものと考えられている。

シロギスでは、産卵の開始時期及び終了時期の水温はいずれも約22℃であり、これ以上の温度で産卵が継続されるものと考えられている（古川, 1991）。産卵期の調節機構に関しては詳しい実験は行われていないが、7～8月にかけて11Lの短日条件においても産卵が継続されること、秋以降水温を24～25℃に保った場合に12月まで産卵を続けた例があることを考慮すると、成熟促進及び維持に対する日長の関与は少ないものとされてきた（古川, 1991）。しかしながら、夏以降自然日長25℃で飼育を続けた場合、秋に生殖腺の退縮が認められた例もあり（清水, 未発表), 産卵期の終了に関しては日長の関与（短日条件で産卵期が終了している可能性）も想定される。

3) 秋産卵型

特によく調べられた種類はカネヒラであり、ここではその例を主にゼニタナゴについても述べる。なお、この両種とも、天然では2回目の産卵期終了後ほとんどが死亡すると考えられることから、2歳魚以降については解析を行っていない。

(a) 産卵期の開始要因

未熟なカネヒラ当歳魚を産卵期前の8月下旬より水温20℃または28℃、日長12Lまたは15Lを組み合わせた条件で1ヵ月弱飼育したところ、水温にかかわらず、12Lの条件で成熟が急速に進み、産卵に至った（Shimizu *et al.*, 1994）。同様の結果はゼニタナゴでも得られており（Shimizu and Hanyu, 1983), いずれの場合も産卵期の開始要因は秋の短日と思われる。

(b) 産卵期の終了要因

カネヒラを11月下旬から日長10L、水温13または20℃の条件で約1ヵ月半飼育したところ、20℃では成

熟が維持されたが、13℃では生殖腺が急速に退縮して産卵期が終了した（Shimizu *et al.*, 1994）。同様の結果はゼニタナゴでも得られており（Shimizu and Hanyu, 1983), 産卵期の終了要因は両種とも冬期の低水温であると結論される。また、ゼニタナゴにおいては、個体識別した雌魚について、産卵日を長期にわたって記録したところ（タナゴ類では産卵管の伸縮によって産卵日を特定できる）、19℃では長期間規則的に産卵を続けるが、13℃または9℃では、水温変更後1回のみ産卵を行い、その後産卵せずに生殖腺が退行する個体が多く、水温変更後は産卵を行わずに退行する場合もあることが明らかとなった（Shimizu and Hanyu, 1983）。これは、卵黄蓄積の臨界温度が排卵ー産卵の臨界温度よりも高く、卵黄蓄積がほぼ完了した卵は低水温でも排卵されるが、未発達の卵はそれ以上の発達が起こらず退行すると考えることによって説明できる。成熟・産卵過程における段階によって許容される温度範囲が異なっている一例であり、このような現象には2種類の生殖腺刺激ホルモン（FSHとLH）の機能分化と発現時期の差とが関与している可能性が高い（清水, 2006参照）。

(c) 春期成熟の抑制要因

カネヒラ1歳魚を4月中旬より、水温24℃、日長9Lまたは15Lで1ヵ月半飼育したところ、どちらの区でも生殖腺の発達が全く起こらなかった。したがってこの時期のカネヒラは明らかな不応期に入っているものと結論された（Shimizu *et al.*, 1994）。同様の結果はゼニタナゴでも得られている（清水, 未発表）。

(d) カネヒラ1歳魚の早期成熟の要因

カネヒラ1歳魚を5月下旬より、水温24℃、日長9Lまたは15Lで1ヵ月飼育したところ、どちらの区でも成熟が急速に進み、完熟に至った。従って、この時期のカネヒラは光周性をほとんど喪失しており、水温条件が好適であれば、自律的に成熟が進行し、その結果、1歳魚の早期成熟が起こるものと考えられる（Shimizu *et al.*, 1994）。また、春の不応期及びそれに連続する夏の早期成熟は、マミチヨグ同様生殖概年周期によって誘導されると考えるのが妥当である。実際に、恒常的条件（水温及び日長一定）に置かれたカネヒラにおいて、ほぼ1年周期の成熟リズムが認められている（清水, 未発表）。

また、ゼニタナゴ1歳魚においては早期成熟は認められず、当歳魚と同様、短日条件で産卵期が開始されるものと考えられる（清水, 未発表）。

(e) 秋産卵魚におけるまとめ

カネヒラ及びゼニタナゴにおいて得られた結果をFig. 3にまとめて示す。

サケマス類を除く秋産卵魚においては、調べられた範囲（ゼニタナゴ及びカネヒラの他、アユ：白石，1961；及びボラ：Kuo *et al.*, 1974）では生殖腺の発達は日長（秋の短日）によって支配されており、水温の関与は少ない。一方、産卵期の終了条件は、産卵期後死亡するアユ等を除けば冬季の低水温によるものと考えられる。サケマス類は特殊であり、生殖腺発達の前半では長日、後半では短日が促進的に働く（朝比奈，1989；羽生，1991；隆島，1982の各総説参照）。これは、サケマス類が例外的にサイズの大きな卵を発達させ、冷水魚であることもあって、卵母細胞の発達に長い期間を必要とすることに関係しているものと考えられる。また、この類は1回産卵型または年1回産卵型であり、産卵期の終了条件を考慮する必要はない。

サケマス類については生殖概年周期の重要性が指摘されている。恒常的条件下において、ニジマスが周期がほぼ1年の生殖周期を示すことが明らかにされており、また、日長をコントロールして擬似的な短縮年周期を作ることによって1年に2から3回の生殖サイクルを回転させることが可能である（Bromage and Duston, 1987; Bromage *et al.*, 1982, 1984; Duston and Bromage, 1986, 1987）。成熟の初期と後期で促進的に働く日長条件が逆転するという一見矛盾するような上記現象も、これらの種類では生殖概年周期の働きが強く、日長条件は、直接生殖現象を支配するというより

もむしろ、生殖概年周期の"entrainment"（いわゆる「時計合わせ」）に働くことで間接的に生殖をコントロールすると考えると、良く説明できる。

4) 春秋産卵型

トビヌメリにおいて実験的な解析がなされている（羽生，1991；Zu，1991）。

この研究によれば、トビヌメリを産卵開始前の8月下旬から各種の水温日長条件で飼育すると、15L、28～29℃区では未熟のままであったが、22～23℃区では産卵が開始された。しかしながら、12Lの方が15Lより成熟が進み、産卵数も多かった。また、産卵期の魚を用いて水温及び日長条件を変化させた場合、日長13Lのまま水温を段階的に下げてゆくと、16℃では産卵は継続し、11℃では停止した。また、水温を20～22℃に保ったまま日長を変化させると、日長を15Lにすると産卵が停止し、11Lに戻すと産卵が再開された。従って、産卵期の開始、終了とも水温条件が重要であるが、日長もある程度関与するものと考えられる。

5) 冬～春産卵型

冬から早春にかけて産卵する魚は、ハゼ科魚類や異体類、寒流系の魚等に比較的多く見られる。しかしながら、実験的な解析がなされた魚種は少ない。

アゴハゼを用いた研究（羽生，1991；金子，1986）によれば、本種を11月中旬から7週間、水温14～20℃、日長10Lまたは13Lで飼育したところ、日長にかかわらず18℃でわずかに生殖腺が発達し、14℃で明らかに成熟が進行した。ただし、本種は水槽内で産卵させることが困難なため、産卵自体は確認されていない。また、完熟魚を5月下旬から1ヵ月間、日長14L、水温15、18、または21℃の条件で飼育すると、18、21℃の両区で生殖腺の退行が起こった。従って、アゴハゼの産卵期開始要因は秋～初冬の水温低下であり、産卵期終了要因は春の水温上昇であると考えられる。同様の結果はウキゴリ及びLong jaw goby *Gyllichthys mirabilis*でも得られているが、この両種では産卵期の開始に短日の促進効果も加わる可能性が示されている（羽生，1991；de Vlaming，1972）。また、マイワシの成熟についても、日長と水温の両方が関わっている可能性がある（松原，1991；白石，本特集号（特別寄稿））。

6) 成熟と環境条件に関するまとめとその他の問題

以上のように、大部分の産卵型である程度の解析がなされており、水温、日長あるいは生殖概年周期の重要性が示されているが、一般的な結論を出すことが可能な程度に詳しく調べられているのは春産卵型、春夏

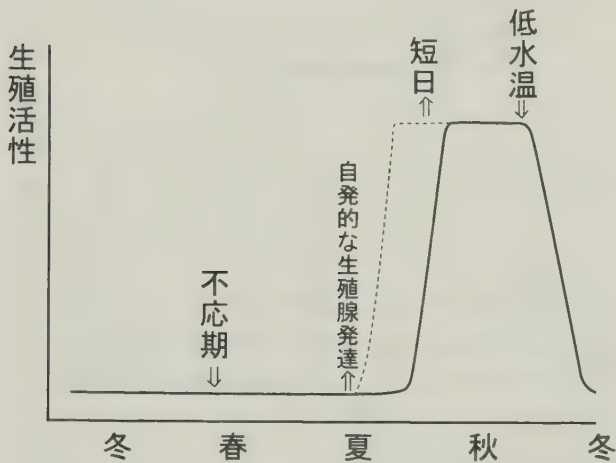


Fig. 3. カネヒラ及びゼニタナゴの生殖年周期の成立機構のまとめ。上向きの矢印は成熟の促進要因，下向きの矢印は抑制要因を示す。カネヒラ当歳魚及びゼニタナゴは秋の短日によって成熟が促進されて産卵期に入り、冬の低水温によって成熟が抑制されて産卵期が終わる。翌年春には水温は適水温となるが、この時期には不応期に入っており、成熟は進行しない。カネヒラ1歳魚（点線）の場合は、長日による成熟抑制機構がほとんど消失しており、自律的に不応期を脱した後成熟が進み、当歳魚よりも1ヵ月以上早く産卵期に入る。

産卵型、及び秋産卵型に限られている。また、いずれの場合も淡水性または沿岸性小型種における結果が主である。

この他、いくつかの栽培対象魚種について、主として早期採卵を目的とした水温または日長コントロールを伴う飼育実験が行われている（虫明ら，2003；手塚，2006）。これらの実験は生殖年周期の調節機構の解明を目的としたものではないため、産卵期の開始要因や終了要因を明確に証明するものではないが、やはり、水温条件等が成熟に大きな影響を及ぼすことを示している。

水平的あるいは垂直的に広大な水域に棲息する魚については、回遊や垂直移動による環境水温の変化という大きな問題がある。例えば、琵琶湖のイサザは、昼間は湖の深部に潜み、夜間に浅部に浮上する大きな垂直異動を行う。その結果、春から秋にかけては最大で15℃に達する水温の日内変動を経験することとなる。イサザも近縁のウキゴリと同様に秋以降の低水温で生殖腺の発達が進められるが、単なる平均水温の低下ではなく、最高水温が閾値（16～17℃）以下に下がることが生殖腺発達の引き金になっているという（Takahashi, 1982）。今後、水温等の成熟再生産への影響に関する理解をより広く一般化するためには、沖合や外洋等に棲息する魚類等、実験の困難性等から研究が進んでいない魚種についても解析を行う必要があると思われる。

5. 産卵頻度、バッチ産卵数、卵サイズ等

これらのパラメーターも変温動物である魚類においては水温の影響を大きく受けると考えられる。特に、周期的産卵を行う魚の産卵頻度は水温に影響される可能性は高く、高水温で産卵頻度が高まるという実際の報告もある（朝比奈，1981）。毎日産卵魚に関しても、産卵期の初期や終期には毎日産卵から間隔をあけた周期産卵への移行が考えられ（鶴田，1991，1992），その間隔はやはり水温に影響されると考えられる。産卵盛期においても、バッチ産卵数等に影響を及ぼすことが考えられる（栗田，2006参照）。また、卵サイズと水温の相関を示す報告も複数あり、一般的には高水温で卵サイズが減少する傾向が認められる（浅見，1953；Imai and Tanaka, 1987; Southward and Demir, 1974；鶴田1992；Ware, 1977）。ただし、その機構は明らかになっていない。

これらのパラメーターは資源生物学上非常に重要であるが、基礎的研究は少なく、特に決定的に重要であると思われる内分泌支配に関する研究が、実験魚、産業種を問わずほとんどない。今後の重要な課題と考えられる。

6. おわりに

以上、真骨魚類の成熟現象と環境条件との関係について概説してきたが、特によく調べられてきた春及び春夏産卵型の小型魚と他の魚種との間の知見の蓄積の差が大きく、この差をできるだけ埋めることが今後の課題である。これについては、本特集号の各総説にあるとおり、飼育技術の向上やバイオテクノロジーの成果を応用した生化学的、分子生物学的指標の利用による環境影響検出の感度及び精度向上等、研究及び技術の高度化が有力な手段となるであろう。

文 献

- 朝比奈 潔1981：タイリクバラタナゴの生殖リズムに関する研究，博士論文，東京大学。
- 朝比奈 潔1989：生殖周期とその調節．水族繁殖学（隆島史夫・羽生功編），緑書房，東京，pp. 103-131.
- Asahina K. and Hanyu I., 1983: Role of temperature and photoperiod in annual reproductive cycle of the rose bitterling *Rhodeus ocellatus ocellatus*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **49**, 61-67.
- Asahina K. and Hanyu I., 1985: Development of photoperiodism involved in the gonadal activity of the rose bitterling. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **51**, 1665-1670.
- 朝比奈 潔，岩下いくお，羽生 功，日比谷 京，1980：タイリクバラタナゴの生殖年周期．日水誌，**46**，299-305.
- 朝比奈 潔，松岡 剛，藤本広明，広瀬一美，日比谷 京，1985：モツゴ（*Pseudorasbora parva*）の成熟に及ぼす水温と光周期の影響．日大農獣医学術研報，**42**，203-210.
- 浅見忠彦，1953：カタクチイワシ *Engraulis japonicus* T. et S.の浮遊卵に関する研究．南海区水研業績集，第1号，業績番号19，1-7.
- Awaji M. and Hanyu I., 1988: Effects of water temperature and photoperiod on the beginning of spawning season in the orange-red type medaka. *Zool. Sci.*, **5**, 1059-1064.
- Awaji M. and Hanyu I., 1989: Seasonal changes in ovarian response in orange-red type medaka. *Zool. Sci.*, **6**, 945-950.
- Baggerman B., 1972: Photoperiodic responses in the stickleback and their control by a daily rhythm of photosensitivity. *Gen. Comp. Endocrinol.*

- Supple., **3**, 466-476.
- Baggerman B., 1985: The role of biological rhythms in the photoperiodic regulation of seasonal breeding in the stickleback *Gasterosteus aculeatus*. *Neth. J. Zool.*, **35**, 14-31.
- Borg B., 1982: Seasonal effects of photoperiod and temperature on spermatogenesis and male secondary sexual characters in the three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus* L. *Can. J. Zool.*, **60**, 3377-3386.
- Borg B. and van Veen T., 1982: Seasonal effects of photoperiod and temperature on the ovary of the three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus* L. *Can. J. Zool.*, **60**, 3387-3393.
- Bromage N. and Duston J., 1987: Circannual rhythms of reproduction and their entrainment by photoperiod in female rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Gen. Comp. Endocrinol.*, **66**, 28.
- Bromage N., Elliot J. A. K., Springate J. R. C., and Whitehead C., 1984: The effects of constant photoperiods on the timing of spawning in the rainbow trout. *Aquaculture*, **43**, 213-223.
- Bromage N., Whitehead C., and Breton B., 1982: Relationships between serum levels of gonadotropin, oestradiol-17 β and vitellogenin in the control of ovarian development in the rainbow trout II. The effects of alteration in environmental photoperiod. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **47**, 366-376.
- De Vlaming V. L., 1972: The effects of temperature and photoperiod on reproductive cycling in the estuarine gobiid fish, *Gillichthys mirabilis*. *Fish. Bull.*, **70**, 1137-1152.
- De Vlaming V. L., 1975: Effects of photoperiod and temperature on gonadal activity in the cyprinid teleost, *Notemigonus crysoleucas*. *Biol. Bull.*, **148**, 402-415.
- Duston J. and Bromage N., 1986: Photoperiodic mechanism and rhythms of reproduction in the female rainbow trout. *Fish Physiol. Biochem.*, **2**, 35-51.
- Duston J. and Bromage N., 1987: Constant photoperiod regimes and the entrainment of the annual cycle of reproduction in the female rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Gen. Comp. Endocrinol.*, **65**, 373-384.
- Gillet C., Breton B., and Billard R., 1978: Seasonal effects of exposure to temperature and photoperiod regimes on gonad growth and plasma gonadotropin in goldfish (*Carassius auratus*). *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, **18**, 1045-1049.
- 古川 清, 1991: シロギス等, 「海産魚の成熟・産卵リズム」(廣瀬慶二編), 恒星社厚生閣, 東京, pp. 65-77.
- 羽生 功, 1991: 生殖周期, 「魚類生理学」(板沢靖男, 羽生 功編), 恒星社厚生閣, 東京, pp. 287-325.
- Harrington R. W., Jr., 1957: Sexual photoperiodicity of the cyprinid fish, *Notropis bifrenatus* (Cope), in relation to the phases of its annual reproductive cycle. *J. Exp. Zool.*, **135**, 529-553.
- Imai C. and Tanaka S., 1987: Effect of sea water temperature on egg size of Japanese anchovy. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **53**, 2169-2178.
- 金子豊二, 1986: ハゼ科魚類の生殖周期に関する研究. 博士論文, 東京大学
- 金子豊二, 羽生 功, 広瀬慶二, 1984: アゴハゼ *Chasmichthys dolichogonathus* の生殖年周期. 日水誌, **50**, 1535-1540.
- Koya Y. and Kamiya E., 2000: Environmental regulation of annual reproductive cycle in the mosquitofish, *Gambusia affinis*. *J. Exp. Zool.*, **286**, 204-211.
- 栗田 豊, 2006: 野外調査と飼育実験を併用した魚類の繁殖特性研究. 水研センター研報, 別冊第4号, 87-99.
- Lee T. Y., Hanyu I. and Furukawa K., 1984: Effects of photoperiod and temperature on the gonadal activity in small filefish, *Rudarius ercodes*. *Bull. Korean Fish. Soc.*, **17**, 523-528.
- 松原孝博, 1991: マイワシ, 「海産魚の成熟・産卵リズム」(廣瀬慶二編), 恒星社厚生閣, 東京, pp. 113-124.
- 虫明敬一, 本藤 靖, 崎山一孝, 浜田和久, 堀田卓朗, 吉田一範, 2003: 日本栽培漁業協会における親魚養成技術開発の現状と今後の課題. 栽培技研, **30**, 79-100.
- 中村守純, 1969: 日本のコイ科魚類, 資源科学研究所, 東京, 306pp.
- 奥沢公一, 古川 清, 会田勝美, 羽生 功, 1986: ホンモロコ *Gnathopogon elongatus caeruleus* の生殖年周期. 日水誌, **52**, 1957-1966.
- Okuzawa K., Furukawa K., Aida K., and Hanyu I., 1989: Effects of photoperiod and temperature on

- gonadal maturation, and plasma steroid and gonadotropin levels in a cyprinid fish, the honmoroko *Gnathopogon caerulescens*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **75**, 139-147.
- Razani H., Hanyu I., and Aida K., 1988a: Environmental influence on ovarian activity and related hormones in yearling goldfish. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **54**, 1505-1511.
- Razani H., Hanyu I., and Aida K., 1988b: Environmental influence on testicular activity and related hormones in yearling goldfish. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **54**, 1513-1520.
- 清水昭男, 1983: 春産卵型及び秋産卵型タナゴ類の生殖周期に関する研究. 博士論文, 東京大学.
- Shimizu A., 1997: Reproductive cycles in a reared strain of the mummichog, a daily spawner. *J. Fish Biol.*, **51**, 724-737.
- Shimizu A., 2003: Effect of photoperiod and temperature on gonadal activity and plasma steroid levels in a reared strain of the mummichog (*Fundulus heteroclitus*) during different phases of its annual reproductive cycle. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **131**, 310-324.
- 清水昭男, 2006: 生殖生理に関する研究手法と水産重要魚種の再生産研究高度化への応用. 水研センター研報, 別冊第4号, 63-70.
- 清水昭男, 羽生 功, 1981: 春産卵魚アカヒレタビラの生殖年周期. 日水誌, **47**, 333-339.
- Shimizu A. and Hanyu I., 1983: Environmental regulation of annual reproductive cycle in a spring-spawning bitterling *Acheilognathus tabira*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **48**, 1563-1568.
- Shimizu A. and Hanyu I., 1983: Environmental regulation of spawning period in autumn-spawning bitterling *Pseudoperilampus typus*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **49**, 895-900.
- Shimizu A. and Hanyu I., 1991: Changes in photoperiodism involved in the gonadal development of a spring-spawning bitterling *Acheilognathus tabira*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **57**, 177.
- Shimizu A. and Hanyu I., 1993: Factors involved in the development of and decline in photoperiodism as it relates to the gonadal activity of a spring-spawning bitterling, *Acheilognathus tabira*. *J. Exp. Zool.*, **265**, 134-143.
- Shimizu A., Aida K., and Hanyu I., 1987: Annual reproductive cycle in an autumn-spawning bitterling *Acheilognathus rhombea*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **53**, 529-536.
- Shimizu A., Aida K., and Hanyu I., 1994: Effects of photoperiod and temperature on gonadal activity and plasma steroid levels in an autumn-spawning bitterling, *Acheilognathus rhombea*, during different phases of its annual reproductive cycle. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **93**, 137-150.
- 白石芳一, 武田達也, 1961, アユの成熟に及ぼす光周期の影響. 淡水研報, **11**, 69-81.
- Southward A. J. and Demir N., 1974: Seasonal changes in dimensions and viability of the developing eggs of the cornish pilchard (*Sardina pilchardus* Walbaum) off Plymouth. The early life history of fish (Blaxter, J. H. S. ed.) . Springer-Verlag, New York.
- Sundararaj B. I. and Vasal S., and Halberg F., 1973: Circannual rhythmic ovarian recrudescence in the catfish *Heteropneustes fossilis*. *Int. J. Chronobiol.*, **1**, 362-363.
- Takahashi S., 1982: Vitellogenesis of the isaza, *Chaenogobius isaza*, controled by the subjective diel thermoperiod caused by vertical migration. *Proc. Japan Acad.*, **58B**, 13-16.
- 隆島史夫, 1982: サケ, マス類. 「魚類の成熟・産卵の制御」(日本水産学会編), 恒星社厚生閣, 東京, pp. 90-103.
- 手塚信弘, 2006: 親魚飼育の具体例ーマダラー. 水研センター研報, 別冊第4号, 147-149.
- 富岡憲治, 沼田英治, 井上慎一, 2003: 時間生物学の基礎, 裳華房, 東京, 223pp.
- 鶴田義成, 1991: カタクチイワシ, 「海産魚の成熟・産卵リズム」(廣瀬慶二編), 恒星社厚生閣, 東京, pp. 101-112.
- 鶴田義成, 1992: カタクチイワシの成熟・産卵と再生産力の調節に関する研究. 水工研報, **13**, 129-168.
- 鶴田義成, 2006: カタクチイワシの成熟・産卵特性から産卵調査を設計する. 水研センター研報, 別冊第4号, 41-48.
- Ware D. M. 1977: Spawning time and egg size of Atlantic mackerel, *Scomber scombrus*, in relation to the plankton. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **34**, 2308-2315.
- Whitehead C., and Bromage N., 1980: Effects of constant long and short day photoperiods on the

- reproduction physiology and spawning of the rainbow trout. *J. Endocrinol.*, **87**, 6-7.
- 米田道夫, 依田真理, 2006: キダイの生殖生態. 水研センター研報, 別冊第4号, 125-129.
- Yoshioka H., 1966: On the effects of environmental factors upon the reproduction of fishes. 3. The occurrence and regulation of refractory period in the photoperiodic response of medaka, *Oryzias latipes*. *J. Hokkaido Univ. Edu.* II B, **17**, 23-33.
- Zhu Y., Furukawa K., Aida K., and Hanyu I., 1989: Annual reproductive rhythm of the tobinumeri-dragonet *Repomucenus beniteguri*, (Callionymidae) in Lake Hamana. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **55**, 591-599.
- Zhu Y., Furukawa, K., Hanyu I., and Aida K., 1991: Effects of temperature and photoperiod on the initiation and termination of autumn spawning season in a tobinumeri-dragonet. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **57**, 1871-1876.

環境水温と魚類の性分化との関係

山下 倫明*・川口奈々美*

Relationship between Environmental Temperature and Sex Differentiation in Fish

Michiaki YAMASHITA* and Nanami KAWAGUCHI*

Abstract Heat stress and other environmental factors influence the determination of phenotypic sex in fish in addition to genetic sex determination. In this review, we focused on sex differentiation and sex reversal under high temperature and other stress conditions in fish. Heat-induced germ cell deficiency was found in males and females of the South American atherinid fish *Odontesthes bonariensis* and *Patagonia hatcheri*. Zebrafish are also sensitive to environmental factors that may influence sex determination, and oocyte apoptosis has been characterized in spermatogenesis during sex differentiation. Since heat shock and other environmental stresses induce apoptosis in various cell types, such stress conditions may induce oocyte apoptosis in the gonads during sex differentiation, followed by spermatogenesis and testicular formation, leading to sex-reversed phenotypic males. Therefore, temperature elevation by global climate change in the ocean may affect sex differentiation and sex reversal in various fish species during early life stages.

Key words: sex differentiation, temperature, environmental stress, apoptosis, zebrafish, spermatogenesis

1. 魚類の性分化

魚類における生殖腺の性分化は性染色体に規定される遺伝的プログラムによるだけでなく、性ホルモンの投与などの内分泌的な刺激や、水温などの環境条件に大きく影響されることが知られているが、このような性分化に関する特徴は、魚種ごとに大きく異なっており、魚類の性分化機構に関する研究は魚類生理学の大きな課題である (Chan and Yeung, 1983; Shapiro, 1990; Devlin and Nagahama, 2002)。メダカ、ゼブラフィッシュ、ニジマス、ティラピアなど多くの魚種で、エストロゲン (17 β -エストラジオール) の投与によりメス化が生じる (Janz and Van Der Kraak, 1997; Nakamura and Takahashi, 1973; Yamamoto,

1953)。一方、高水温条件での飼育によりオス化する現象が知られている (Chardard *et al.*, 1995; Kitano *et al.*, 1999; Korpelainen, 1990; Struussmann *et al.*, 1998)。地球温暖化に伴って海水温の上昇が予測されているが、生育可能な上限域に生息する魚種では高水温によって性分化に影響する可能性が考えられる。わが国沿岸に分布する、マアジ、サンマなどの海産魚類でも性分化が環境水温の影響を強く受け、性分化期に高水温条件に置かれることにより、生殖腺の退行変性 (不妊化) あるいは著しいオス化 (単性化) が生じることも考えられる。その結果、高水温は魚類の資源量の変動や種の絶滅をもたらす可能性がある。このように、魚類資源への地球温暖化の影響を予測する上で、高水温による魚類の性転換と生殖細胞の退行変性の現象お

よびそのメカニズムの解明は極めて重要な研究課題である。そこで、まず重要魚類資源を対象として、各魚種の性分化の分子メカニズムを解明するとともに、水温など環境条件が性分化に強く影響する発育段階を確認する必要がある。

2. 生殖細胞の生化学的マーカー

魚類の生殖腺は、将来、配偶子となる生殖細胞と、生殖細胞の分化および維持に関わる体細胞の二種類の細胞から構成される。生殖腺における生殖細胞の同定は、生殖腺の横断面の組織切片を顕微鏡観察することによって、細胞の形態から判断することが可能である。また、性分化期以降の生殖腺における生化学的マーカーとしてではチトクロムP450アロマターゼ (Chiang *et al.*, 2001; Kishida and Callard, 2001a,b; Trant *et al.*, 2001; Young *et al.*, 1983) や、エストロゲンレセプター (Pakdel *et al.*, 1989) などが発現していることから、これらを生化学的マーカーとして免疫組織化学染色法によって生殖腺の分化と発達の様子を観察することができる。胚期の未分化の生殖細胞の同定は、細胞の形態観察だけでは体細胞との判別が困難であるが、最近、生殖細胞に特異的に発現する *vasa* 遺伝子が、ゼブラフィッシュ、ニジマス、ティラピア等の魚類から単離され、RNAプローブによる *in situ* ハイブリダイゼーション法によって特異的に検出することが可能となってきた (Yoon *et al.*, 1997; Yoshizaki *et al.*, 2000; Kobayashi *et al.*, 2000)。

マアジ、サンマ等の海産魚類についても、生殖腺特異的な遺伝子を単離同定することにより、これらに対する遺伝子プローブまたは遺伝子産物に対する抗体を用いて、未分化の生殖細胞および性分化後の生殖腺の各細胞を組織化学的に分離同定することが可能である。そのため、アロマターゼ、*vasa*などの遺伝子ホモログを単離するとともに、生殖細胞特異的な新たな遺伝子を同定するため、生殖腺からcDNA遺伝子ライブラリーを作製し、EST解析、ディファレンシャルスクリーニングなどの遺伝子解析手法により生殖腺における発現遺伝子のカタログ化が必要である。マイクロアレイ手法の活用によって、性分化の各ステージおよび発達の異常を計測する技術開発も可能となる。

3. 性決定メカニズム

哺乳類ではXY染色体による遺伝的な性決定の機構が明らかにされており、オスの個体では発生の過程でSry精巣決定遺伝子の作用によって精巣の分化が誘導

されることが知られている (Sinclair *et al.*, 1990; 中山, 1997)。一方、魚類にはSry遺伝子は存在しない。最近、メダカのY染色体が同定され、オス化を誘導する遺伝子として、DMY遺伝子が同定された (Matsuda *et al.*, 2002)。このDMY遺伝子はメダカの近縁種にしか分布しておらず、XY染色体による遺伝的な性決定様式をもつ他の魚種での遺伝的な性決定機構は依然不明のままである (Volf *et al.*, 2003)。しかしながら、生殖腺の分化および発達のパターンは、脊椎動物の種間で保存される点も多いことから、XY染色体による遺伝様式を示す魚種では、精巣の分化に関わる哺乳類SRY遺伝子・メダカDMY遺伝子と類縁の遺伝子あるいは同様の細胞内機構を有する関連遺伝子が、性決定遺伝子として機能するものと推測される。

メダカ、サケ科魚類などXY染色体による遺伝的な性決定に対して、ペヘレイなど環境水温に依存して性分化が誘導される例は、温度依存型性決定として知られるが、その分子および細胞レベルでのメカニズムも不明である (中山, 1997)。ペヘレイでは飼育水温が17℃で全個体がメス化するが、水温に依存してオスの比率が高まり、24℃では50~70%がオス化し、29℃では全個体がオス化する現象が知られている (Strüssmann *et al.*, 1998)。また、ヒラメでは通常は遺伝的な性決定に従うが、温度の影響も受け (温度感受型性決定)、ヒラメにおいても20℃以下ではメスが多いが、高水温ではオス化する現象が報告されている (Kitano *et al.*, 1999; 山本, 1999)。

ゼブラフィッシュの性分化過程を観察した例では、はじめ、すべての個体の生殖腺中の生殖原細胞の多くは卵母細胞へ分化する。孵化後3週間後に生殖腺の性分化が始まり、オスでは卵母細胞がアポトーシスによって消失したのち、精巣が形成され、メスでは卵母細胞が充実して卵巣に発達する (Takahashi, 1977; Uchida *et al.*, 2002)。この性分化時期に高水温で処理すると、オス化が誘導されることから、性分化期の高温ストレスは分化期にある生殖細胞または体細胞のアポトーシスを過剰に誘導するため、卵母細胞が消失して卵巣の形成が阻害され、エストロゲンの合成を抑制することが刺激となり、精巣形成が誘発される機構が推定される (Fig. 1)。

性決定の様式に関わらず、多くの魚種で17 β -エストラジオールの投与によりメス化する。一方、メチルテストステロンの投与によって未分化生殖腺が精巣に分化する。また、高温処理によってもオス化が誘導されることが知られており、生殖腺におけるアロマターゼによるエストロゲンの生合成の経路および高温ストレスによって誘導されるアポトーシスの経路が、魚類の

生殖腺の性分化に大きな役割を果たしている (Janz and Van Der Kraak, 1997; Nakamura and Takahashi, 1973; Yamamoto, 1953; Kitano *et al.*, 1999; D'Cotta *et al.*, 2001)。

このことから、マアジ、サンマ等海産魚類の性分化における高水温の影響を明らかにするためには、水温の異なる条件で飼育管理された実験魚を用いて、生殖腺の性分化を組織化学的に観察するとともに、生殖腺におけるアロマターゼの発現パターン、エストロゲンレベルおよびアポトーシスの発現の魚種毎の相違を調べる必要がある。

4. ストレスによる生殖腺異常

高温ストレスによるアポトーシスの発現は、胚または生殖腺組織切片のTUNEL染色法 (細胞核における分解したDNA断片の特異的染色法) で観察することができる (Yabu *et al.*, 2001)。また、生化学的手法として、生殖腺抽出物におけるアポトーシス誘導性酵素カスパーゼの活性を測定することができる (Yabu *et al.*, 2001)。ストレス誘導性HSP70遺伝子の発現パターンをRT-PCR, ノーザンブロット等によって測定する実験手法も利用可能である。このようにして観察できるアポトーシスおよびストレス応答は、ストレス刺激の度合いに依存して、強く生じることから、カスパーゼ活性、HSP70mRNAなどを定量的に計測することによって、高水温条件によるストレスの度合いと生殖腺の異常発現を対比して観察する研究手法が期待できる。

文 献

- Chan S. T. H. and Yeung W. S. B., 1983. : Sex control and sex reversal in fish under natural conditions. In *Fish Physiology*, vol. 9 Part B, (ed. W. S. Hoar, D. J. Randall, and E. M. Donaldson), pp. 171-222. New York, Academic Press.
- Chardard D., Desvages G., Pieau C., and Dournon C., 1995. : Aromatase activity in larval gonads of *Pleurodeles waltl* (Urodele Amphibia) during normal sex differentiation and during sex reversal by thermal treatment effect. *Gen. Comp. Endocrinol.* **99**, 100-107.
- Chiang E. F., Yan Y. L., Guiguen Y., Postlethwait J., and Chung B. C., 2001: Two Cyp19 (P450 aromatase) genes on duplicated zebrafish chromosomes are expressed in ovary and brain. *Mol. Biol. Evol.* **18**, 542-550.
- D'Cotta H., Fostier A., Guiguen Y., Govoroun M., and Baroiller J.-F., 2001: Aromatase plays a key role during normal and temperature-induced sex differentiation of tilapia *Oreochromis niloticus*. *Mol. Reprod. Dev.*, **29**, 265-276.
- Devlin R. H. and Nagahama Y., 2002: Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and environmental influences. *Aquaculture*, **208**, 191-364.
- Janz D. M. and Van Der Kraak G., 1997: Suppression of apoptosis by gonadotropin, 17β -estradiol, and epidermal growth factor in rainbow trout

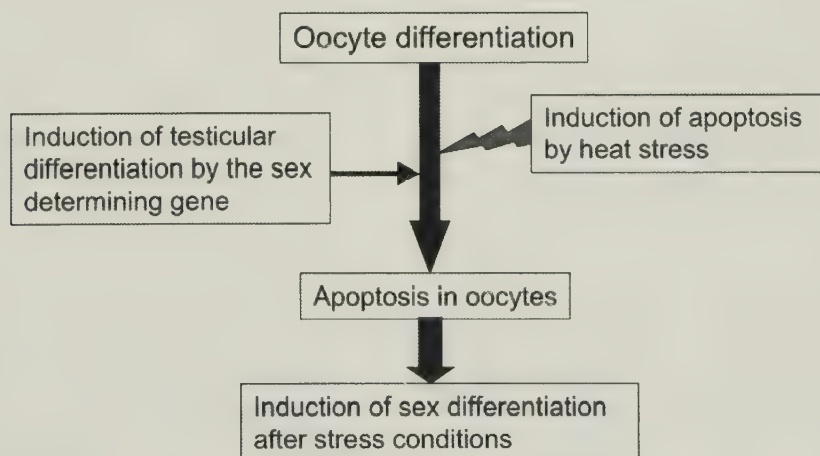


Fig. 1. Sex differentiation model under heat stress conditions in temperature-dependent sex determination mechanism in zebrafish.

- preovulatory ovarian follicles. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **105**, 186-193.
- Kishida M. and Callard G. V., 2001a: Distinct cytochrome P450 aromatase isoforms in zebrafish (*Danio rerio*) brain and ovary are differentially programmed and estrogen regulated during early development. *Endocrinology*, **142**, 740-750.
- Kishida M., McLellan M., Miranda J. A., and Callard G. V., 2001b: Estrogen and xenoestrogens upregulate the brain aromatase isoform (P450arom B) and perturb markers of early development zebrafish (*Danio rerio*). *Comp. Biochem. Physiol.*, **129B**, 261-268.
- Kitano T., Takamune K., Kobayashi T., Nagahama Y., and Abe S. I., 1999: Suppression of P450 aromatase gene expression in sex-reversed males produced by rearing genetically female larvae at a high water temperature during a period of sex differentiation in the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *J. Mol. Endocrinol.*, **23**, 167-176.
- Kobayashi T., Kajiura-Kobayashi H., and Nagahama Y., 2000: Differential expression of *vasa* homologue gene in the germ cells during oogenesis and spermatogenesis in a teleost fish, tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Mech. Dev.*, **99**, 139-142.
- Korpelainen H., 1990: Sex ratios and conditions required for environmental sex determination in animals. *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.*, **65**, 147-184.
- Matsuda M., Nagahama Y., Shinomiya A., Sato T., Matsuda C., Kobayashi T., Morrey C. E., Shibata N., Asakawa S., Shimizu N., Hori H., Hamaguchi S., and Sakaizumi, M., 2002: DMY is a Y-specific DM-domain gene required for male development in the medaka fish. *Nature*, **417**, 559-563.
- Nakamura M. and Takahashi H., 1973: Gonadal sex differentiation in tilapia, with special regard to the time of estrogen treatment effective in inducing complete feminization of genetic males. *Bull. Fac. Fish Hokkaido Univ.*, **24**, 1-13.
- 中山一郎, 1997: 性決定に関連するDNA/遺伝子。「魚類のDNA (青木宙, 隆島史夫, 平野哲也編) 恒星社恒星閣, p.391-413.
- Pakdel F., Le Guellec C., Vaillant C., Le Roux M. G., and Valotaire Y., 1989: Identification and estrogen induction of two estrogen receptors (ER) messenger ribonucleic acids in the rainbow trout liver: sequence homology with other ERs. *Mol. Endocrinol.*, **3**, 44-51.
- Shapiro D. Y., 1990: Sex-changing fish as a manipulable system for the study of the determination, differentiation, and stability of sex in vertebrates. *J. Exp. Zool.*, **Suppl. 4**, 132-136.
- Sinclair A., H., Berta P., Palmer M., S., Hawkins J., R., Griffiths B., L., Smith M., J., Foster J., W., Frischau A., M., Lovell-Badge R., and Goodfellow P., N., 1990: A gene from the human sex-determining region encodes a protein with homology. *Nature*, **346**, 240-244.
- Strüssmann C. A., Saito T., and Takashima F., 1998: Heat-induced germ cell deficiency in the teleosts *Odontesthes bonariensis* and *Patagonia hatcheri*. *Comp. Biochem. Physiol.*, **119A**, 637-644.
- Takahashi H., 1977: Juvenile hermaphroditism in the zebrafish *Brachydanio rerio*. *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.*, **28**, 57-65.
- Trant J. M., Gavasso S., Ackers J., Chung B. C., and Place A. R., 2001: Developmental expression of cytochrome P450 aromatase genes (CYP19a and CYPb) in zebrafish fry (*Danio rerio*). *J. Exp. Zool.*, **15**, 475-483.
- Uchida D., Yamashita M., Kitano T., and Iguchi T., 2002: Oocyte apoptosis during the transition from ovary-like tissue to testes during sex differentiation of juvenile zebrafish. *J. Exp. Biol.*, **205**, 711-718.
- Vollf J., N., Kondo M., and Schartl M., 2003. Medaka dmY/dmrt1Y is not the universal primary sex-determining gene in fish. *Trends. Genet.*, **19**, 196-199.
- Yabu T., Todoriki S., and Yamashita M., 2001: Stress-induced apoptosis by heat shock, UV and γ -ray irradiation in zebrafish embryos detected by increased caspase activity and whole mount TUNEL staining. *Fish. Sci.*, **67**, 333-340.
- Yamamoto T., 1953: Artificial induced sex-reversal in genotypic males medaka (*Oryzias latipes*). *J. Exp. Zool.*, **123**, 571-594.
- 山本栄一. 1999: ヒラメの全雌およびクローン魚作出技

- 術開発に関する研究. 日水誌, **64**, 638-641.
- Yoshizaki G., Sakatani S., Tominaga H., and Takeuchi T., 2000. : Cloning and characterization of a *vasa*-like gene in rainbow trout and its expression in the germ cell lineage. *Mol. Rep. Devl.*, **55**, 364-371.
- Yoon C., Kawakami K., and Hopkins N., 1997. : Zebrafish *vasa* homologue RNA is localized to the cleavage planes of 2- and 4-cell-stage embryos and is expressed in the primordial germ cells. *Development*, **124**, 3157-3165.
- Young G., Kagawa H., and Nagahama Y., 1983: Evidence for a decrease in aromatase activity in the ovarian granulosa cells of amago salmon (*Oncorhynchus rhodurus*) associated with final oocyte maturation. *Biol. Reprod.*, **29**, 310-315.

サンゴ礁魚類の性分化, 性転換機構の形態学的, 生理学的研究

中村 将^{*1,2}・小林靖尚^{*1,2}・三浦さおり^{*1}

Morphological and Physiological Studies on Sex Differentiation and Sex Change in Coral Reef Fish

Masaru NAKAMURA^{*1,2,3}, Yasuhisa KOBAYASHI^{*1,2} and Saori MIURA^{*1,2}

Abstract In addition to gonochorism, several types of hermaphroditism are seen in fish. Individuals of some fishes bear gonads containing both mature ovary and mature testis. Some fishes change sex from male to female (protandrous sex change), others change from female to male (protogynous sex change), and a few can change sex either way and multiple times (bothway sex change). In many cases, sex change is cued by social factors, such as the disappearance of a male or female from a group. These phenomena reveal that the mechanisms of sex determination and sex differentiation in fishes, in being diverse and more plastic, differ from those of other higher vertebrates. First, our research focuses on analyzing the mechanism of sex differentiation in gonochoristic fish, using genetically controlled all-female and all-male tilapia *Oreochromis niloticus*. Second, we examined the sex change from an endocrinologic viewpoint, using morphological, physiological, and molecular techniques. In order to further characterize protandrous, protogynous, and bothway sex changes, we carry out experimental studies with the sea anemone fish *Amphiprion clarkii*, the three spotted wrasse *Halichoeres trimaculatus* and the honeycomb grouper *Epinephelus merra*, and the gobiid fish *Trimma okinawae*, respectively.

Key words: sex differentiation, sex change, hermaphrodite, estrogen, androgen, aromatase

はじめに

魚類では、雌雄異体現象の他に雌雄同体現象が多く知られている (Table 1)。雌雄同体現象には一個体の生殖腺内に成熟した卵巣と精巣を同時に持つ種 (同時的雌雄同体), 雌から雄 (雌性先熟), または雄から雌に性転換する種 (雄性先熟), 雄, 雌どちらにも何度でも性転換する種 (両方向性転換) などが知られている (Atz, 1964; Yamamoto, 1969; 余呉, 1986; Devlin

and Nagahama, 2002)。この事実は、魚類の雌雄性は他の両生類以上の高等な脊椎動物とは異なり多様であり、著しい可塑性があることを示している。性転換する魚の殆どは熱帯、亜熱帯を中心としたサンゴ礁域に生息することが知られている。本来有性生殖は遺伝子の新しい組み合わせの頻度を高め生物多様性を育む根元となっているが、一生の間に雄と雌を経験する性転換魚ではより新しい遺伝子の組み合わせを可能にし、熱帯性魚類の多様性を加速させる要因となっているも

2006年1月6日受理 (Accepted on January 6, 2006)

^{*1} 琉球大学熱帯生物圏研究センター, 瀬底実験所 〒905-0227 沖縄県国頭郡本部町瀬底3422番地 (Sesoko Station, Tropical Biosphere Research Center, University of the Ryukyus. 3422 Sesoko, Motobu, Okinawa 905-0227, Japan)

^{*2} CREST, JST, 科学技術振興機構 (Core Research for Evolutional Science and Technology)

^{*3} SORST, JST, 科学技術振興機構 (Solution Oriented Research for Science and Technology)

のと考える。これらを研究材料として、他の脊椎動物では実現困難な研究手法により、脊椎動物の性の可塑性や進化の解明に迫れるものと考え。現在、雌から雄へ性転換する種としてベラ科のミツボシキュウセン *Halicoeres trimaculatus*, ハワイのベラ *Thalassoma duperrey*, 雄から雌へ性転換する種としてスズメダイ科のクマノミ *Amphiprion clarkii*, 両方向の性転換する種としてハゼ科のオキナワベニハゼ *Trimma ohinawae*を用いて、性転換機構の形態学的、生理学的、分子生物学的解明に取り組んでいる。また、水産増養殖上重要なハタの性転換技術の開発についてもハタ科のカンモンハタ *Epinephelus merra*を用いて取り組んでいる。

正常性分化と内因性性ホルモン

性転換の複雑な機構を解明するには、雌雄異体魚の性分化機構、即ち、発生に伴い未分化生殖腺が卵巢又は精巢に分化する機構を明らかにする必要があると考える。はじめに、雌雄異体魚の性分化機構について今までの研究成果を概説する。魚類の性分化過程の形態的観察についてはすでに総説 (Nakamura *et al.*, 1998; 中村, 2000; Strüssmann and Nakamura, 2002) としてまとめているのでそちらを参照して貰いたい。性分化期に性ホルモン処理すると遺伝的な性と反対の性に誘導することが可能である。このことから、内因性の性ホルモン (様物質) が性分化に関与していると考えられてきた (Yamamoto, 1969)。そこで、雌雄異体魚のティラピアとアマゴの性分化過程でのステロイドホルモンを合成する細胞であるステロイド産生細胞の分化を微細構造学的に調べた (Nakamura and Nagahama, 1985; Nakamura and Nagahama, 1989a; Nakamura and Nagahama, 1993)。その結果、

Table 1
魚類の雌雄性 (余呉, 1986 改変)。

- I. 雌雄異体現象
- II. 雌雄同体現象
 - A. 機能的雌雄同体
 - a. 同時的雌雄同体
 - b. 隣接的雌雄同体
 - 1. 雄性先熟
 - 2. 雌性先熟
 - 3. 両方向性転換
 - B. 痕跡的 (非機能的) 雌雄同体
 - a. 副雌雄同体現象
 - b. 幼時雌雄同体現象

性分化期にはすでにステロイド産生細胞が分化し、性分化に伴って急激に発達することが明らかとなった。性分化期の生殖腺は著しく小さいため合成されるホルモンを正確に測定することは困難である。そこで、遺伝的に産み分けられた全雌、全雄のティラピアを用いてステロイド合成酵素の発現を免疫組織化学的手法により明らかにすることを試みた (Nakamura *et al.*, 1998; Nakamura *et al.*, 2000; Nakamura *et al.*, 2003)。本研究では、ステロイド合成酵素の中でコレステロール側鎖切断酵素 (P450scc), 17 β -水酸化酵素 (P450c17), 3 β -水酸基脱水素酵素 (3 β -HSD), 女性ホルモン合成に必須のアロマターゼ (P450arom) に対する特異抗体を用いた。その結果、遺伝的雌では、性分化前の生殖腺にすべての酵素の発現が見られ、卵巢分化、発達に伴い陽性反応が強くなり、陽性細胞数が増加することが明らかとなった。これら酵素群の免疫組織化学的証明は、性的分化期以前の生殖腺ですでに女性ホルモンの合成が始まっていることを強く示している。この事実より遺伝的雌では女性ホルモンが卵巢分化誘導物質として働いているものと考えられる。一方、遺伝的雄の未分化生殖腺、精巢分化時及び分化直後の生殖腺にはこれら酵素の抗体の免疫陽性反応は見られなかった。このことから、男性ホルモンを含む性ホルモンが直接精巢分化に関与している可能性は少ないものと考えられる (Fig. 1)。

以上の様に内因性の女性ホルモンが卵巢分化に重要な働きをしているものと考えられた。卵巢分化時の女性ホルモンの機能を詳細に解明するために抗女性ホルモン物質を作用させ卵巢分化に及ぼす影響を実験的に調べた。はじめに、全雌を用いて性分化期にアロマター

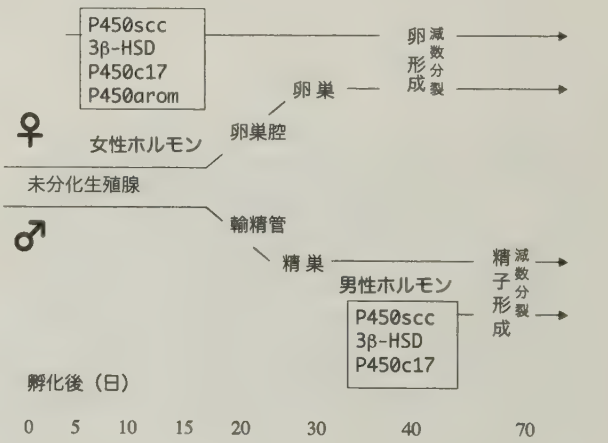


Fig. 1. ティラピアの性分化に伴うステロイド代謝酵素の発現。遺伝的雌の未分化生殖腺にアロマターゼ酵素を含む酵素群の発現が見られる。遺伝的雄では精巢分化前後でも発現は見られない。

ゼの酵素活性を阻害し女性ホルモンの合成を低下させるアロマターゼ・インヒビター (AI) 処理した (Nakamura *et al.*, 2000)。その結果, すべての個体は精巣を持つ雄へと転換した。卵巢分化時の女性ホルモンの合成が阻害されると性転換することが明らかとなった。AIと女性ホルモンのエストラジオール (E2) を同時投与すると性転換が抑制された。このことは, AIは内因性の女性ホルモンの合成を抑制するが, 外因性の女性ホルモンにより再び卵巢に分化するものと考えられた。また, 女性ホルモンの働きを拮抗阻害するタモキシフェンで処理すると卵巢腔の形成の遅れや卵巢中に成熟した精巣組織の分化が見られ, 雄化することが確かめられた (Nakamura *et al.*, 2003)。以上の実験から, 性分化期前後に合成される女性ホルモンの働きを阻害すると卵巢分化が抑制され精巣へ分化することが明らかになった。このことからティラピアの卵巢分化には女性ホルモンが決定的役割を果たしていると考えられた。ステロイド合成酵素の免疫組織化学的観察より精巣分化に男性ホルモンが関与していないと考えられたが, 一般に遺伝的雌 (XX) に男性ホルモン処理すると雄へと性転換する。その理由は不明であった。全雌に男性ホルモンのメチルテストステロン (MT) を投与し性転換を誘導した。その性転換過程のアロマターゼを含むステロイド代謝酵素の発現を調べた (Bhandari *et al.*, 2006)。その結果, MT処理魚の生殖腺にはいずれのステロイド代謝酵素の発現が見られなかった。このことは, MTは, ステロイド代謝酵

素の発現抑制, 女性ホルモンの合成の抑制を介して, 精巣へと分化させるものと考えられた。

性分化後の生殖細胞, 体細胞の両性能

雌雄異体魚は, 性分化時に性ホルモン処理すると遺伝的性とは反対の性に容易に性転換を誘導することができる。しかし, 性分化後に性ホルモン処理しても性転換することはない。このことから, 生殖腺中の生殖細胞, 体細胞は性分化後に両性能を失うものと考えられていた。しかしながら, 最近, ティラピアの成熟直前の発達した卵巢を持つ雌であってもアロマターゼ・インヒビター処理し女性ホルモンを著しく低下させると精子形成を活発に行う精巣へと完全に転換することを発見した (Nakamura *et al.*, 2003)。このことは, 少なくとも性分化後の卵巢にある卵原細胞の一部は, 精子にも分化する両性能を持つこと, 卵巢を構成する体細胞の一部の細胞もライデッヒ細胞, セルトリ細胞に分化する能力を持つことを示している。更に, 卵巢中の卵原細胞, 体細胞は卵巢で作られる女性ホルモンの絶えず曝されていなければ精巣へと分化してしまうことを示している。このことは次に説明する親での性転換機構と密接な関係を持つものと考ええる。

性転換魚の性分化, 性転換と性ホルモンの役割

性転換魚の性分化過程についての観察は少ない。雄

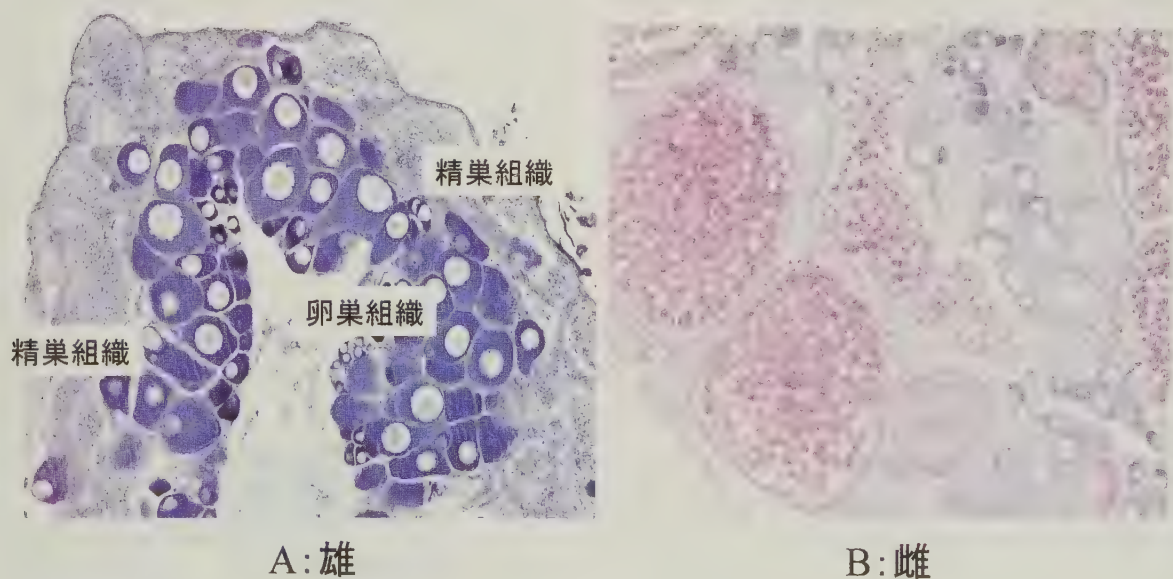


Fig. 2. クマノミの生殖腺. A: 雄の生殖腺, 成熟した精巣組織と未熟な卵巢組織を持つ両性生殖腺. B: 雌の生殖腺, 成熟した卵巢組織からなり精巣組織は見られない。

性先熟魚クマノミの雄期の生殖腺は成熟した精巣と未熟な卵巣を持つ両性生殖腺を示す (Fig. 2) (Nakamura *et al.*, 1994)。はじめに両性生殖腺の分化、発達過程を組織学的に観察した (Miura *et al.*, 2003)。孵化後30日目までに始原生殖細胞は体腔上皮由来の体細胞に取り囲まれて生殖腺原基を形成した。孵化後61日目の個体では、卵形成のための減数分裂期の生殖細胞の包囊の出現と、卵巣腔形成のための体細胞の集塊が生殖腺基部と先端部に見られた。その後、孵化後122~183日目の個体で卵母細胞の急激な増加と発達が見られた。孵化後214~273日目では、卵巣組織を取り囲む状態で精巣組織が生殖腺の外縁部に初めて認められ、完全な両性生殖腺が形成された。以上の結果から、クマノミでは、未分化生殖腺は始めに卵巣へと分化し、その後しばらくして、精巣組織が卵巣内に分化してきて両性生殖腺が形成されることが明らかとなった。精巣のみを持つ生まれつきの雄（一次雄）は見られなかった。従って、全ての雌は両性生殖腺を持つ雄から性転換して雌となる。雌は、精巣組織を全く持たない卵巣をもつことから、性転換後には精巣組織は消失する。現在、性分化機構、精巣組織の分化機構、性転換機構の解明をおこなっている。

ハワイのペラの雌から雄への性転換過程の生殖腺の観察を行った (Nakamura *et al.*, 1989b)。雌の生殖腺には、成熟した卵、若い卵の他に生殖原細胞が見られるが、精巣と判断される組織は全く見られない。性転換は成熟した卵、未熟な卵が退化、吸収により開始するがこの時期はまだ精巣組織は見られない。卵がほとんど無くなってくると、今度は精子を作るための精原細胞が現れてくる。卵は完全になくなり活発な精子形成する完全な精巣へと転換する。卵巣から精巣へと性転換するまでには3から4週間かかる。

P450sc α の抗体を用いてステロイドホルモン産生細胞の性転換過程の変化について免疫組織化学的に調べた (Morrey *et al.*, 1998)。主に免疫陽性細胞は成熟卵を取り囲む莖膜細胞層にみとめられた。性転換の開始に伴って莖膜細胞層より離れ卵巣薄板中央部分に集合する。その後、精原細胞が出現する時期に増殖し集塊をなす様になる。精子形成の進行に伴い、間質部分に分散する。このことから、卵巣中の莖膜細胞は、性転換後にライディッヒ細胞へと分化することが明らかになった。

性ホルモンの性転換に伴う変化について調べた。性転換の開始に伴い、血中の女性ホルモン (E2) が急激に低下した (Nakamura *et al.*, 1989b)。男性ホルモンの11-ケトテストステロン (11-KT) は性転換開始後しばらくしてから上昇した。このことから、性転換の開始には男性ホルモンの上昇よりも女性ホルモンの

急激な低下が重要であると考えられた。そこで、ミツボシキウセンを用いてアロマトラーゼ・インヒビター (AI) を雌に投与することにより女性ホルモンを低下させ生殖腺に及ぼす影響を調べた (Higa *et al.*, 2003)。その結果、全ての個体は、成熟した精巣を持つ雄へと性転換した。AIとE2を同時に投与した雌は性転換しなかった。このことから、女性ホルモンの低下が性転換の引き金になるものと考えられる。

オキナワベニハゼは、体長2~3 cm程の小型のハゼで鹿児島・沖縄のサンゴ礁に生息している。この魚の大きな雌と小さな雌を同じ水槽に入れると、大きな雌が性転換を起こし雄となる (Sunobe and Nakazono, 1993)。逆に、大小の雄をペアにした状態では、小さな雄が性転換し雌となる (Fig. 3)。このような飼育実験を繰り返す事により、オキナワベニハゼを何度でも両方向に性転換させることが可能である。この実験で、性行動は性転換の方向に関係なく30分以内で性転換する。また、生殖腺の性転換は雌から雄へは5日間、雄から雌へは10日間で完了する。これらの素早い性転換は、他の雌性先熟および雄性先熟型の性転換様式に比べ、魚類の性転換機構を理解する上で大変都合が良い。

初めに我々は、オキナワベニハゼの生殖腺構造を詳細に観察した。その結果、オキナワベニハゼは同一個体内に精巣と卵巣を同時に持つことを明らかにした (Fig. 4)。雌として機能しているときは卵巣が成熟し、

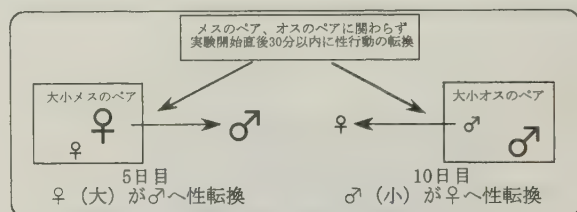


Fig. 3. オキナワベニハゼの両方向の性転換，社会的に性が決まる。

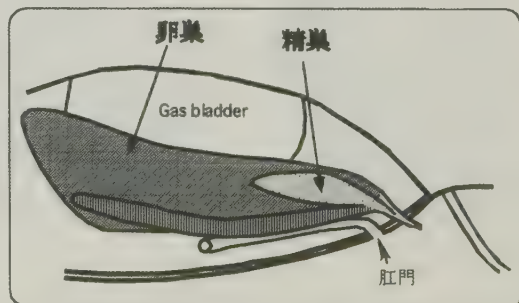


Fig. 4. オキナワベニハゼの生殖腺の形態，卵巣と精巣を同時に持つ。

精巣は未発達であった。逆に機能的雄では精巣が発達し、卵巣が未熟であることが分かった。性転換時には、成熟していた卵巣又は精巣が退化し、未熟な精巣又は卵巣が成熟して完了することを組織学的に明らかにした (Kobayashi *et al.*, 2005a)。他の性転換魚と異なり退化した生殖腺が消失・吸収されなかったことから、この特殊な生殖腺構造がオキナワベニハゼの両方向性転換を可能にしていると考えられた。

続いて、女性ホルモン産生に必須なステロイド代謝酵素の P450arom の両方向性転換時の卵巣内における発現変化を調べた。その結果、P450arom の遺伝子発現には大きな変動が見られず、その発現は常に高かった。しかし、P450aromの蛋白発現を、特異抗体による免疫染色により調べた結果、雌機能時の卵巣で強く見られた発現が、雌から雄への性転換時や、雄機能時の卵巣では、消失していた (Kobayashi *et al.*, 2004; Sunobe *et al.*, 2005)。さらに、ステロイド代謝酵素調節因子の一つである Ad4BP/SF-1 の卵巣内での発現は、雌機能時には高く、雄機能時には低かった。また、それらの発現は、性転換の方向に従って変化し、雌から雄への性転換時には減少し、逆に雄から雌への性転換時には増加した (Kobayashi *et al.*, 2005b)。これらの結果から、P450aromの遺伝子から蛋白への翻訳調節や Ad4BP/SF-1 の遺伝子発現は、個体の優劣関係などの社会環境の変化により調節されており、このことが、卵巣の活性化や生殖腺の性転換に関与していると考えられた。

人為的性転換の誘導と水産増養殖への応用

熱帯、亜熱帯域の養殖対象魚として重要なハタ類も雌から雄へ性転換する。多くのハタでは全ての個体ははじめ雌として機能し、ある大きさになって性転換して初めて雄が出現する。2, 3メートルに成長する大型ハタでは雄が入手出来なくて養殖が困難となるケースが多い。このため、雌を雄にする技術開発が望まれている。小型のカンモンハタを用いて性転換の内分泌調節機構の解明と人為的性転換を試みてきた。雌期個体の卵巣には、ステロイド代謝酵素の P450scc と雄性ホルモンの 11-KT の合成に重要な 11- β -水酸化酵素 (P45011 β) の抗体とともに免疫陽性反応を示す細胞群が卵巣の外側を取り巻く卵巣白膜組織内に認められた。性転換に伴いこの細胞径が大きくなることを明らかにした。また、卵濾胞細胞層の莢膜細胞から由来すると考えられる細胞が性転換に伴い P45011 β 陽性反応を示す様になり、性転換後の精巣中のライディヒ細胞へと分化することを明らかにした (Alam *et al.*, 2005)。ハタの

自然の性転換過程の性ホルモンは、ベラ同様に性転換開始には E2 が低下し、性転換の後半で 11-KT が有意に上昇した (Bhandari *et al.*, 2003a)。雌のハタに AI 処理して性転換が誘導出来るか調べた (Bhandari *et al.*, 2003b; Bhandari *et al.*, 2004a; Bhandari *et al.*, 2004b; Bhandari *et al.*, 2005b)。その結果、ベラと同様に処理した全ての雌は成熟した雄へと性転換した。自然の性転換と同様に血中の E2 がはじめに低下し、その後、11-KT が上昇した。性転換した雄と雌との自然交配により受精卵を得ることができた。受精卵は、正常に胚発生して孵化した。

終わりに

性分化に女性ホルモンの有無が重要であること、性分化後の卵巣の維持に女性ホルモンが重要であること、性転換にも女性ホルモンが重要な役割を果たしていることが明らかになってきた。今後は、女性ホルモンの合成を支配している機構の解明、及び女性ホルモンの下流にある機構の解明が性分化、性転換機構を解明する上で重要になってくるものと考えている。

文 献

- Alam M. A., Komuro H., Bhandari R. K., Nakamura S., Soyano K., and Nakamura M., 2005: Immunohistochemical evidence possibly identifying the site of androgen production in the ovary of the protogynous grouper *Epinephelus merra*. *Cell Tissue Res.*, **320**, 323-329.
- Atz J. W., 1964: Intersexuality, in fishes. In "Intersexuality Vertebrates Including Man" (ed. By Armstrong C. N., Marshall A. J.), Academic Press, London, pp. 147-232
- Bhandari R.K., Komuro H., Nakamura S., Higa M., and Nakamura M., 2003a: Gonadal restructuring and correlative steroid hormone profiles during natural sex change in honeycomb grouper (*Epinephelus merra*). *Zool. Sci.*, **20**, 1399-1404.
- Bhandari R.K., Higa M., Komuro H., Nakamura S., and Nakamura M., 2003b: Treatments with an aromatase inhibitor induces complete sex in protogynous honeycomb grouper (*Epinephelus merra*). *Fish Physiol. Biochem.*, **28**, 141-142.
- Bhandari R. K., Higa M., Nakamura S., and Nakamura M., 2004a: Aromatase inhibitor

- induces complete sex change in the protogynous honeycomb grouper (*Epinephelus merra*). *Mol. Repro. Devel.*, **67**, 303-307.
- Bhandari R. K., Komuro H., Higa M., and Nakamura M., 2004b: Sex inversion of sexually immature honeycomb grouper (*Epinephelus merra*) by aromatase inhibitor. *Zool. Sci.*, **21**, 305-310.
- Bhandari R. K., Nakamura M., Kobayashi T., and Nagahama Y., 2006: Suppression of steroidogenic enzyme expression during androgen-induced sex reversal. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **145**, 20-24.
- Bhandari R. K., Alam M. A., Higa M., Soyano K., and Nakamura M., 2005: Evidence that estrogen regulates the sex change of honeycomb grouper (*Epinephelus merra*), a protogynous hermaphrodite fish. *J. Exp. Zool.*, **303A**, 497-503.
- Devlin R.H. and Nagahama Y., 2002: Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and environmental influences. *Aquaculture*, **208**, 191-364.
- Higa M., Ogasawara K., Sakaguchi A., Nagahama Y., and Nakamura M., 2003: Role of steroid hormones in sex change of protogynous wrasse. *Fish Physiol. Biochem.*, **28**, 149-150.
- Kobayashi Y., Kobayashi T., Sunobe T., Suzuki N., Nakamura M., and Nagahama Y., 2004: Characterization of two types of cytochrome P450 aromatase in the serial-sex changing gobiid fish. *Trimma okinawae*. *Zool. Sci.*, **21**, 417-425.
- Kobayashi Y., Sunobe T., Kobayashi T., Nagahama Y., and Nakamura M., 2005a: Gonadal structure of the serial-sex changing gobiid fish *Trimma okinawae*. *Develop. Growth Differ.*, **47**, 7-13.
- Kobayashi Y., Kobayashi T., Sunobe T., Suzuki N., Nakamura M., and Nagahama Y., 2005b: Ad 4 BP/SF-1 in the serial-sex changing fish, *Trimma okinawae*: Its cDNA cloning and expression in gonads during sex change. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **332**, 1073-1080.
- Miura S., Komatsu T., Higa M., Bhandari R. K., Nakamura S., and Nakamura M., 2003: Gonadal sex differentiation in protandrous anemone fish, *Amphiprion clarkii*. *Fish Physiol. Biochem.*, **28**, 165-166.
- Morrey C.E., Nakamura M., Kobayashi T., Grau E. G., and Nagahama Y., 1998: P450scc-like immunoreactivity throughout gonadal restructuring in the protogynous hermaphrodite *Thalassoma duperrey*. *Int. J. Dev. Biol.*, **42**, 811-816.
- 中村將, 2000: 魚類の性分化と生殖に関する内分泌学的研究. 日水誌, **66**, 376-379.
- Nakamura M. and Nagahama Y., 1985: Steroid producing cells during ovarian differentiation of the tilapia, *Sarotherodon niloticus*. *Develop. Growth Differ.*, **27**, 701-708.
- Nakamura M. and Nagahama Y., 1989a: Differentiation of Leydig cells and, and changes of testosterone levels during testicular differentiation in tilapia, *Oncorhynchus rhodurus*. *Fish Physiol. Biochem.*, **7**, 211-219.
- Nakamura M. and Nagahama Y., 1993: Ultrastructural study on the differentiation and development of steroid-producing cells during ovarian differentiation in the amago salmon, *Oncorhynchus rhodurus*. *Aquaculture*, **112**, 237-251.
- Nakamura M., Hourigan T., Yamauchi K., Nagahama Y., and Grau G.E., 1989b: Histological and ultrastructural evidence for the role of gonadal steroid hormones in sex change in the protogynous wrasse *Thalassoma duperrey*. *Envir. Biol. Fish.*, **24**, 117-136.
- Nakamura M., Kobayashi T., Chang X-T., and Nagahama Y., 1998: Gonadal sex differentiation in teleost fish. *J. Exp. Zool.*, **281**, 362-372.
- Nakamura M., Mariko T., and Nagahama Y., 1994: Ultrastructure and in vitro steroidogenesis of the gonads in the protandrous anemonefish *Amphiprion frenatus*. *Jpn. J. Ichtyol.*, **41**, 47-56.
- Nakamura M., Kobayashi T., Yoshiura Y., and Nagahama Y., 2000: Role of endogenous steroid hormones on gonadal sex differentiation in fish. In "Proceedings of the Sixth International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish." (ed. by Norberg B., Kjesbu O. S., Taranger G. L., Andersson E. and Stefansson S. O.) Fish Symp 99, Bergen Norway, pp. 247-249.
- Nakamura M., Bhandari R. K., and Higa M., 2003: The role estrogens play in sex differentiation and in sex changes of fish. *Fish Physiol. Biochem.*, **28**, 113-117.

- Strüssmann C. A. and Nakamura M., 2002: Morphology, endocrinology, and environmental modulation of gonadal sex differentiation in teleost fishes. *Fish Physiol. Biochem.*, **26**, 13-29.
- Sunobe T. and Nakazono A., 1993: Sex change in both directions by alternation of social dominance in *Trimma okinawae*. *Ethology*, **94**, 339-345.
- Sunobe T., Nakamura M., Kobayashi Y., Kobayashi T., and Nagahama Y., 2005: Aromatase-like immunoreactivity and the role of enzymes in steroid pathways for inducing sex change in the hermaphrodite gobiid fish *Trimma okinawae*. *Comp. Biochem. Physiol.*, **141A**, 54-59.
- Yamamoto T., 1969: Sex differentiation. In "Fish Physiology" (ed. By Hoar W. S. and Randall D.J.) Vol. .IIIA, Academic Press, New York, London, pp.117-175.
- 余呉 豊, 1986: 魚類に見られる雌雄同体現象とその進化, 魚類の性転換, 東海大学出版会, pp.1-47.

ヒラメにおける生殖腺の性分化機構

北野 健*

Mechanism of Gonadal Sex Differentiation in Japanese Flounder (*Paralichthys olivaceus*)

Takeshi KITANO*

Abstract Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) is a teleost fish which has a XX (female)/XY (male) sex determination mechanism. Genetic females can be experimentally sex-reversed to phenotypic males when the larvae are reared at high water temperature or treated with androgens, providing an excellent model to study mechanisms of gonadal sex differentiation in teleost fishes.

In the present paper, I review recent findings on gonadal sex differentiation in Japanese flounder, and then discuss mainly about roles of sex steroid hormones on the sex differentiation.

Key words: Japanese flounder, sex differentiation, steroid hormone

ヒラメの性は、通常は遺伝的に決定され、XX個体は雌へ、XY個体は雄へと分化する (Tabata, 1991)。しかしながら、XX個体にアンドロゲン (17 α -メチルテストステロン) 投与または高水温処理を行うと雄へ (Tabata, 1991; Yamamoto, 1995)、XY個体にエストロゲン (エストラジオール-17 β) 投与を行うと雌へと性転換することが知られている (田中, 1988)。ヒラメ性分化に伴う生殖腺の最初の形態的变化は、雌では全長30mm前後での卵巣腔の形成、雄では全長37mm前後での生殖細胞の分布様式 (生殖細胞が生殖腺の背縁側に沿って集中する) と特異な体細胞の発達であり (田中, 1987; Yamamoto, 1995)、XX個体を日齢30から18 $^{\circ}$ C飼育により雌へ、27 $^{\circ}$ C飼育により雄へと分化誘導した個体では、日齢60前後がその雌雄の性分化開始時期にあたる (Kitano *et al.*, 1999)。

ヒラメの性分化に関する研究は、近年、性ホルモン及び増殖因子に関する知見が蓄積されてきたので、それらを中心に概説したい。Kitano *et al.* (1999) は、通常雌 (XX) と性転換雄 (XX) との交配により生産

した全雌集団を18 $^{\circ}$ C飼育により雌へ、27 $^{\circ}$ C飼育により雄へと分化誘導し、それら個体の生殖腺におけるアロマターゼ (アンドロゲンをエストロゲンに変換する酵素) mRNAの発現量をRT-PCRにより調べた結果、性分化開始時期 (日齢60) 以降、雌の生殖腺では急激に増加するが、雄の生殖腺では減少することを明らかにした。さらに、性分化時期のXX個体にアロマターゼ阻害剤 (ファドロゾール) または抗エストロゲン剤 (タモキシフェン) を投与することで、生殖腺でのアロマターゼ mRNAの発現が抑制されて雄へと性転換する一方、これらと同時にエストラジオール-17 β を投与することにより、アロマターゼ mRNAの発現が誘導されて雌へと分化したことから、雌への性分化にはアロマターゼ mRNAの発現及びエストロゲンが不可欠であると考えた (Kitano *et al.*, 2000)。また、アンドロゲン (17 α -メチルテストステロン及び11-кетテストステロン) の投与により雄へと性転換を誘導した個体においても、生殖腺でのアロマターゼ mRNAの発現が抑制されたことから (Kitano *et al.*, 2000; Yoshinaga

et al., 2004), ヒラメにおける遺伝的雌から雄への性転換には、エストロゲン量の減少が引き金となっている可能性が考えられる。

11-ケトテストステロンの合成に関与する酵素の一つである11 β -水酸化酵素 mRNAの発現をRT-PCRにより調べた結果、性分化後(日齢80)に雄の生殖腺でのみ増加した(Kitano et al., 2002)。このことは、アンドロゲンは雄への性分化後、主に精巣の発達に関与していることを示唆している。しかしながら、11 β -水酸化酵素 mRNAは、*in situ* hybridization法を用いた解析では、性的未分化時期(日齢50)及び日齢60の雌雄の生殖腺でも弱い発現が観察される(北野, 未発表)。したがって、アンドロゲンがヒラメ性分化において重要な役割を果たしている可能性もあることから、今後、抗アンドロゲン剤等を用いたアンドロゲンの機能解析が待たれるところである。一方、ヒラメにおけるエストロゲン受容体(ER α , ER β)及びアンドロゲン受容体(AR α , AR β) mRNAの発現は、日齢50から雌雄の生殖腺において検出されるものの、性差は認められなかった(Kitano et al., 2002)。これらのことは、性分化におけるエストロゲン及びアンドロゲンシグナル量の調節には、これら受容体は関与していないことを示唆しているが、タンパク質レベルでのこれら受容体の発現解析などにより、mRNAレベルでの結果を確認する必要があるだろう。

それでは、雄への性分化には、どのような因子が関

与しているのだろうか?最近、ミューラー管抑制物質(MIS)のヒラメホモログが単離された(Yoshinaga et al., 2004)。MISは、トランスフォーミング増殖因子 β (TGF- β)スーパーファミリーに属する糖タンパク質であり、哺乳類、鳥類、爬虫類において、性分化時期に雄特異的な発現を示す(Eusebe et al., 1996; Münsterberg and Lovell-Badge, 1991; Western et al., 1999)。XX個体を18 $^{\circ}$ C飼育により雌へ、27 $^{\circ}$ C飼育または11-ケトテストステロン処理により雄へと分化誘導し、性分化時期におけるこれら雌雄の生殖腺でのMIS mRNAの発現を*in situ* hybridization法により調べた結果、性分化時期(日齢60)以降、MIS mRNAの発現は、雌の生殖腺では検出されず、雄の生殖腺の支持細胞でのみ観察された(Fig. 1)。これらのことから、性分化時期でのMIS mRNAの発現パターンは、哺乳類、鳥類、爬虫類と同様に、ヒラメにおいても保存されていることが明らかになった。ヒラメにおけるMISホモログの生理的機能はまだ明らかではないが、雄への性分化に何らかの役割を果たしている可能性があり、大変興味深い。

このように、ヒラメにおける性分化機構の解析は、近年、急速に進展している。この一因として、ヒラメの性分化が水温等の環境要因でコントロールしやすく、阻害剤等の投与実験が容易であることが挙げられる。今後は、アロマターゼ及びMISの発現制御機構の解明が期待される。

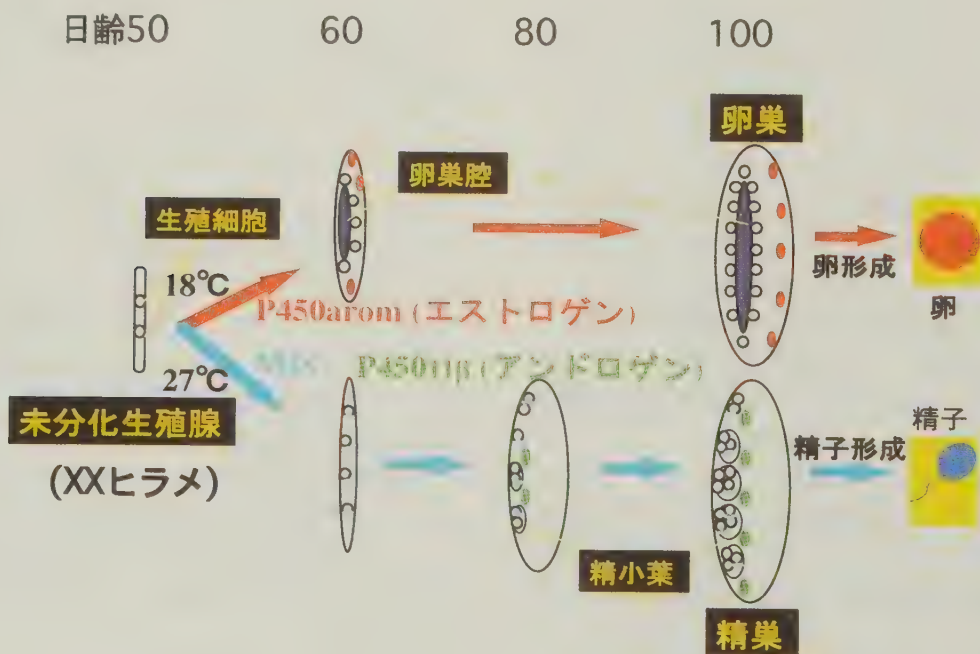


Fig. 1. ヒラメの性分化過程におけるアロマターゼ(P450arom), 11 β -水酸化酵素(P45011 β), ミューラー管抑制物質(MIS) mRNAの発現パターン

文 献

- Eusebe D.C., di Clemente N., Rey R., Pieau C., Vigier B., Josso N., and Picard J.Y., 1996 : Cloning and expression of the chick anti-Müllerian hormone gene. *J. Biol. Chem.*, **271**, 4798-4804.
- Kitano T., Takamune K., Nagahama Y., and Abe S.-I., 2000 : Aromatase inhibitor and 17 α -methyl-testosterone cause sex-reversal from genetical females to phenotypic males and suppression of P450 aromatase gene expression in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Mol. Reprod. Dev.*, **56**, 1-5.
- Kitano T., Takamune K., Nagahama Y., and Abe S.-I., 2002 : Gonadal sex differentiation in Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Fish. Sci.*, **68**, 679-680 .
- Kitano T., Takamune K., Kobayashi T., Nagahama Y., and Abe S.-I., 1999 : Suppression of P450 aromatase gene expression in sex-reversed males produced by rearing genetically female larvae at a high water temperature during a period of sex differentiation in the Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *J. Mol. Endocrinol.*, **23**, 167-176.
- Munsterberg A., and Lovell-Badge R., 1991 : Expression of the mouse anti-Müllerian hormone gene suggests a role in both male and female sexual differentiation. *Development*, **113**, 613-624.
- Tabata K., 1991 : Induction of gynogenetic diploid males and presumption of sex determination mechanisms in the hirame *Paralichthys olivaceus*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **57**, 845-850.
- 田中秀樹, 1987 : ヒラメの生殖腺の性分化過程. 養殖研報, **11**, 7-19.
- 田中秀樹, 1988 : ヒラメの生殖腺の性分化に及ぼすエストラジオール-17 β の影響. 養殖研報, **13**, 17-23.
- Western P.S., Harry J.L., Graves J.A.M., and Sinclair A.H., 1999 : Temperature-dependent sex determination in the American alligator: *AMH* precedes *SOX 9* expression. *Dev. Dyn.*, **216**, 411-419.
- Yamamoto E., 1995 : Studies on sex-manipulation and production of cloned populations in hirame flounder, *Paralichthys olivaceus* (Temminck et Schlegel). *Bull. Tottori Pref. Fish. Exp. Stn.*, **34**, 1-145.
- Yoshinaga N., Shiraishi E., Yamamoto T., Iguchi T., Abe S.-I., and Kitano T., 2004 : Sexually dimorphic expression of a teleost homologue of Mullerian inhibiting substance during gonadal sex differentiation in Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **322**, 508-513.

大西洋マダラの成長と生殖に及ぼす環境の影響

米田 道夫*

Effects of Environmental Condition on Growth and Reproduction of Atlantic Cod, *Gadus morhua*

Michio YONEDA*

Abstract This paper describes the effects of temperature and food availability on growth and reproduction of first-time spawning Atlantic cod, *Gadus morhua*, in addition to the previous findings on the relationship between environmental condition and reproductive characteristics of this species. A reduction in daylength is a vital environmental cue regulating the gonadal maturation. The growth in vitellogenic oocyte diameter is positively correlated with temperature. Higher food availability can lead to a higher egg production of females that have experienced spawning before. In first-time spawning fish, there were sex-specific differences in the environmental effects on sexual maturation and gamete production. Low temperature led to an arrest in the onset of vitellogenesis, resulting in the occurrence of females that postponed spawning. Food manipulation did not significantly affect potential fecundity, but did affect somatic growth during vitellogenesis. In contrast, higher food availability resulted in a higher sperm production. A marked truncation in the upper size and age structure of cod spawning stock biomass is now evident due to the intense fishing pressure during the last several decades. Therefore, the pre-spawning season environment could potentially have an effect on annual egg production of such young population in the coming and future spawning seasons.

Key words: Atlantic cod, photoperiod, water temperature, food availability, gonadal maturation, annual egg production

大西洋マダラ (*Gadus morhua*) は北緯35°以北の大西洋およびその周辺海域に分布する有用種であり、日本周辺海域から北部太平洋に分布する同属の太平洋産マダラ (*Gadus macrocephalus*) とは異なる繁殖特性を有することが知られている (Hattori *et al.*, 1992; Sakurai and Hattori, 1996)。大西洋マダラは水温や塩分などの物理環境に対して比較的広い適応性があるため (*e.g.* Brander, 1994a,b; Lambert *et al.*, 1994; Rätz and Lloret, 2003), その分布範囲は汽水域から深海域 (～水深600m), ガルフ海流の影響を受ける温

暖なヨーロッパ諸国沿岸から低温な北極海, グリーランド海にまで及ぶ。本種の餌生物は魚類や甲殻類などであるが, 緯度的に異なる生息環境では利用可能な餌生物の種組成が劇的に変化する。例えば, バレンツ海産大西洋マダラは餌生物として大西洋シシャモ (*Mallotus villosus*) に依存しており, シシャモ資源の多寡によって大西洋マダラの体コンディション (肥満度, 肝量指数など) や再生産力が大きく変動する (Kjesbu *et al.*, 1998; Marshall *et al.*, 1999; Yaragina and Marshall, 2000)。また, バルティッ

ク海では、ニシン科魚類 2 種 (sprat, *Sprattus sprattus* and herring, *Clupea harengus*) の資源豊度が大西洋マダラの卵生産の変動に影響を与える (Kraus *et al.*, 2002)。このように、大西洋マダラは個体群によって生息域の物理、生物環境が大きく異なるため、地域環境に応じた多様な生物特性を示すことが知られている (Brander, 1994a,b)。一方、大西洋マダラは材料の入手や飼育の容易さ、水槽内でも自然産卵を行うことなどから、海産魚類のモデル魚として、成長・繁殖機構に及ぼす環境の影響に関する実験報告が数多くなされている。本稿では、まず大西洋マダラの生物特性と環境との関連性などを報告するとともに、最近の研究成果である、初回産卵魚の成長と生殖に及ぼす水温と餌環境の影響を紹介する。

水温と成長、性成熟

大西洋マダラは、成長が比較的早く、北海では生後 1 年で全長約 20cm、2 年で全長約 50cm、満 4 歳には全長約 80cm に達する (Daan, 1974)。北海産大西洋マダラは雌雄ともに生後 2～4 年、全長 35～65cm で性的成熟に達する (Brander, 1994b; Yoneda and Wright, 2004)。

大西洋マダラの成長と性成熟は地域環境の水温と密接な関係があることが示されている。水温の高い海域 (低緯度) の個体群は水温の低い海域 (高緯度) よりも成長が良く、成熟開始時期 (体長、年齢) も早い (*e. g.* Brander, 1994a; Campana *et al.*, 1995; Marteinsdottir and Begg, 2002; Dutil and Brander, 2003; Rätz and Lloret, 2003)。これは餌生物組成の豊かな低緯度海域において、6℃以上での水温の上昇は実験的に予測される大西洋マダラの最適成長水温に近づくこと (Bjornsson and Steinarsson, 2002; Dutil and Brander, 2003)、高い成長率は性成熟の早期開始につながること (Godø and Haug, 1999) などに影響しているものと考えられる。しかし、これら成長や性成熟を含めた生物特性の地理的変異は、水温や餌環境のみならず、各海域における自然死亡あるいはサイズ選択的漁獲圧による遺伝的影響 (大型・高齢魚の高い死亡率によって早熟な遺伝形質を持つ個体群が淘汰されることに由来) が同時に作用しているのではないかと考えられている (Svåsand *et al.*, 1996; Marteinsdottir and Begg, 2002; McIntyre and Hutchings, 2003; Olsen *et al.*, 2004; Yoneda and Wright, 2004)。

日長と生殖腺の成熟開始

大西洋マダラの卵黄形成および精子形成開始は秋～

冬であるが (Burton *et al.*, 1997; Rideout and Burton, 2000)、生殖腺の成熟開始には日長が重要な役割を果たしていることが実験的に明らかにされている (Hansen *et al.*, 2001)。

自然日長と長日処理 (24 時間照射) を組み合わせた複数の実験区を設け、大西洋マダラ初回産卵魚雌雄の成熟・産卵状況を調べた。日長の切り替えは 12 月下旬に行い、同時に超音波診断により各個体の生殖腺の成熟状況をモニタリングした。なお、水温はほぼ一定 (8～10℃) で、平日に市販のペレットを飽食させた。自然日長区および実験前半 (6～12 月) に自然日長を経験した処理区では 1 月から産卵がみられた。一方、長日から自然日長に切り替えた処理区では 4 月に産卵が開始した。実験期間中、長日処理された実験区では産卵は認められなかった。日長の切り替え時期である 12 月下旬において、実験前半に自然日長を経験した個体では生殖腺の正常な発達 (一部は配偶子形成が進行) がみられたが、長日区の個体では自然日長区に比べて生殖腺が小さく、未発達な状態であると判断された。また、自然日長区で産卵が確認された 1～3 月において、表層胞期よりも発達した卵巣卵を持つ雌は長日区で認められなかった。これらのことから、大西洋マダラの生殖腺の成熟の進行は短日化が重要な役割を果たしていると考えられる。

水温と卵黄形成の進行

大西洋マダラの卵黄形成進行は水温に依存することが明らかとなっている (Kjesbu, 1994)。卵黄卵の卵径と水温の関係式から、卵径 300 μm の卵黄形成初期卵が卵径 700 μm の卵黄形成後期に達する日数は、水温 9℃ で約 83 日と推定される。また、卵黄形成初期における水温 2℃ の降下は産卵開始を 16～21 日遅らせる。

餌環境と卵生産

大西洋マダラ雌魚の孕卵数および産卵数は餌環境によって変化する (Kjesbu *et al.*, 1991; Wroblewski *et al.*, 1999; Lambert and Dutil, 2000)。高給餌により体コンディションの良くなった個体は、無・低給餌区の低コンディションの個体よりも、より多くの無卵黄卵を生産し、それらを高い割合で卵黄形成に導くことにより、孕卵数および産卵数の増加に反映させる (Kjesbu *et al.*, 1991)。しかし、給餌制限により体コンディションが悪くなった個体では、退行卵の出現割合が増加し、結果として孕卵数や産卵数の減少を招く。天然海域では、産卵前の餌環境の悪化などにより低コ

ンディションに見舞われた個体において、生殖腺の成熟進行が中断され、その年に産卵を行わないskipped spawnerが認められている (Rideout *et al.*, 2000)。

年齢、性別、産卵経験に伴う繁殖特性の変化

大西洋マダラは年齢やサイズに依存した産卵期間、配偶子生産などの相違がみられる。高齢魚は雌雄ともに、若齢魚に比べ、産卵開始時期が早く、終了時期も遅い (Hutchings and Myers, 1993)。また、雄は、雌よりも、長期間にわたって放精可能な状態を維持する。初回産卵雌魚では給餌量の多寡にかかわらず、相対孕卵数 (孕卵数/体重) に変化がみられないのに対し (Kjesbu and Holm, 1994; Karlsen *et al.*, 1995)、経産卵魚では摂取エネルギーが高ければより多くの卵を生産する (Kjesbu *et al.*, 1991)。また、初回産卵雌魚の産卵数、産出卵の卵径、受精率、孵化率は、水温や給餌条件が同じ飼育下にあるほぼ同サイズの経産卵魚と比較して、その全てに劣ることが報告されている (Trippel, 1998)。一方、雄では、精液の精子密度、精子運動能、受精率、孵化率などにおいて、初回産卵魚と経産卵魚における相違は認められない (Trippel and Neilson, 1992)。

初回産卵魚の成長と生殖に及ぼす水温と餌環境の影響

水温は個体の摂餌量や代謝と密接な関係があるばかりでなく (Jobling, 1988)、ホルモンの合成や分泌にも影響を及ぼす (Van Der Kraak and Pankhurst, 1997)。水温低下は、水温上昇時よりも、環境への馴致に時間がかかり (Fry, 1971)、低水温の環境下では生理的ストレスを誘発させやすいことが知られている (Staurnes *et al.*, 1994)。一方、慢性的な餌不足に陥る冬季には、未成熟魚においても体内の蓄積エネルギーの低下がみられる (Hutchings *et al.*, 1999a)。すなわち、春産卵魚である大西洋マダラは、生理的、エネルギー的ストレスに陥りやすい状況下で生殖腺の成熟開始とその進行、排卵・排精を行っていると考えられる。そこで、水温の変動を生息環境に模倣させ、また給餌量を調節した複数の処理区を設け、冬季の環境変化が初回産卵魚雌雄の成長・生殖特性にどのような影響を及ぼすかを調べた (Yoneda and Wright, 2005a,b)。

スコットランド周辺海域で採集された大西洋マダラ1歳魚を用い、2002年11月～2003年3月にFRS Marine Laboratory (Aberdeen, UK; 57°8'N, 20°4'W) で実験を行った。処理区には、低水温・高給餌区、自然水温・高給餌区、高水温・高給餌区、高水温・低給餌

区の計4区を設けた。水温は自然水温区を基準として高・低水温区に±3℃の勾配をつけた (Fig. 1)。高給餌区では1日1回、市販のペレットを飽食させ、高水温・低給餌区では高水温・高給餌区の約半量を与えた。なお、実験期間中における水温の低下に伴い、高給餌区の残餌量が増加したため、それらの給餌量は適宜減少させた。水温の影響には給餌制限を設けない3処理区において、給餌量の影響には高水温の2処理区において、それぞれ比較した。実験期間中、3回のカニキュレーションにより各個体の生殖腺の成熟状況をモニタリングし (Fig. 1)、雌では卵黄形成後期、雄では排精をそれぞれ確認した時点で個体を取り上げ、実験に供した。なお、雄では排精個体を、雌では卵黄形成期以降にまで発達した卵巣を持つ個体をそれぞれ成熟魚と規定した。

1. 成熟率と生殖腺の成熟状況

雄ではいずれの処理区においても大部分の個体が成熟 (排精) し、特に給餌制限のない高水温区、自然水温区で成熟率が高かった (Table 1)。雌では、給餌量にかかわらず、自然水温区および高水温区の大部分の個体が成熟した。しかし、低水温区の雌の成熟率は、他の3処理区と比べ、極めて低かった。実験期間中、低水温区の雌の未成熟個体から卵黄形成期の卵巣卵を採取できなかったとともに、終了時にはそれらの多くの個体で周辺仁期卵の退行が確認された。これらのことは、低水温区の雌の未成熟個体が実験期間中、卵黄形成を開始していなかったことを示している。

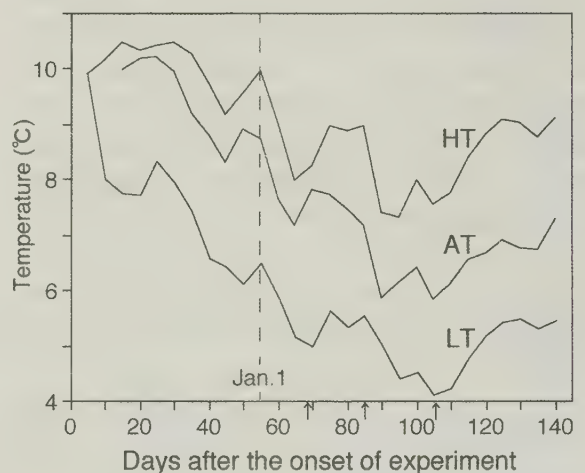


Fig. 1. Temperature regimes in different groups of treatments throughout the experiment between November 8, 2002 and March 27, 2003. Arrow shows the date of biopsies sampling. LT, AT, HT, low, ambient or high temperature.

2. 成長率と体コンディション

日間体成長率 (SGR: $SGR=100[\ln(BW \text{ on day } b) - \ln(BW \text{ on day } a)] / (b-a)$; BW, 体重) に対する給餌量の影響は, 雌雄ともに実験期間前半の成熟魚で認められた ($p<0.05$, Mann Whitney U-test, Fig. 2)。実験期間前半における, 自然水温・高水温区の未成熟魚と成熟魚のSGRには雌雄ともに有意差がみられた (雄: 成熟魚, 0.43 ± 0.03 (Mean $\pm$ SE), 未成熟魚, 0.01 ± 0.01 ; $p<0.001$, U-test; 雌: 成熟魚, 0.55 ± 0.04 , 未成熟魚, 0.10 ± 0.13 ; $p<0.001$)。一方, 実験期間後半では雌雄成熟魚のSGRにおける給餌量の影響は認められず ($p>0.05$), 未成熟魚と成熟魚のSGRにも有意差は認められなかった (雄: 成熟魚, 0.005 ± 0.032 , 未成熟魚, 0.001 ± 0.001 ; $p>0.05$; 雌: 成熟魚, 0.10 ± 0.02 , 未成熟魚, $SGR = 0.23 \pm 0.11$; $p>0.05$)。これは, 成熟魚雌雄のSGRが, 各処理区で実験期間の前半から後半において有意に減少したためである ($p<0.001$, U-test, Fig. 2)。一方, 自然水温・高水温区における未成熟雌魚のSGRは, 実験期間中変化しなかった ($p>0.05$, U-test)。このことは, 実験期間前半~後半における水温の低下が成熟雌魚のSGRを減少させた主要因ではないことを示唆している。一方, 水温処理区間における成熟魚雌雄のSGRの相違は, 実験前半と後半のいずれでも認められなかった ($p>0.05$, Kruskal-Wallis (KW-test))。

肝量指数 (HSI: $HSI=100 \cdot LW / (BW-GW)$; LW, 肝臓重量; GW, 生殖腺重量) は個体の脂質エネルギーを的確に表す指標であることが知られている (Lambert and Dutil, 1997)。雌雄ともに, 水温処理区間における成熟魚のHSIには相違が認められなかった ($p>0.05$, KW-test)。低水温区の未成熟雌魚のHSIは, 給餌制限のない自然水温・高水温区の成熟雌魚と比べ, 有意差がなかった ($p>0.05$, KW-test)。一方, 成熟雌魚の高水温・高給餌区のHSIは高水温・低給餌区に比べ有意に高かったが ($p<0.05$, U-test), 成熟雌魚のHSIはそれら処理区間で有意差が認められなかった ($p>0.05$)。

3. 卵成長と卵黄形成開始時期

SGRと卵黄卵の成長量には負の相関が認められ, 卵黄形成が進行するにつれて体成長率が減少していくことが明らかとなった ($r^2=0.493$, $p<0.001$, generalized linear model (GLM))。このことは, 成熟雌魚でみられた実験期間中の体成長率の低下が卵黄形成の進行によるものであることを示している。また, SGRと卵黄卵の成長量の関係における給餌条件の影響は有

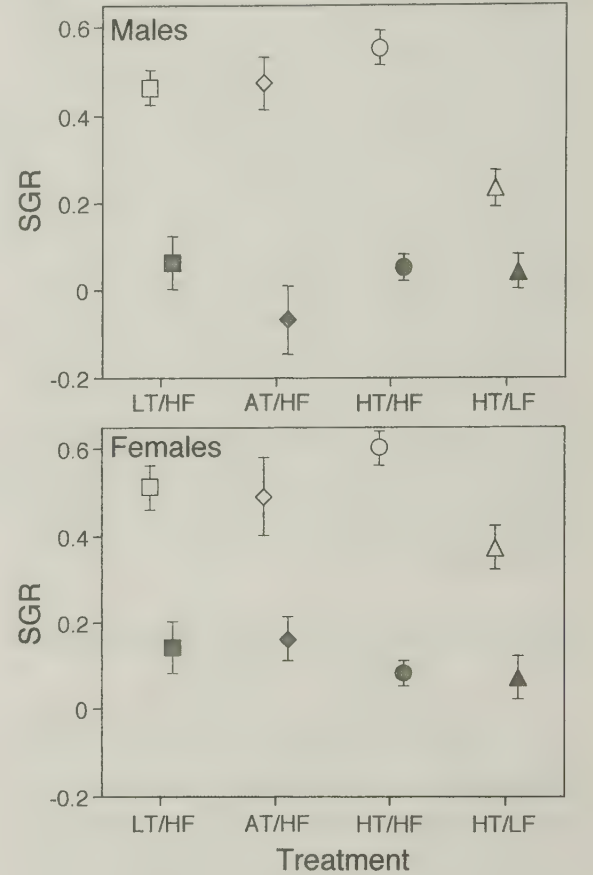


Fig. 2. Mean (±S.E.) daily somatic growth rate (SGR) of mature males and females cod in different groups of treatment between early (November-January, open marks) and late (January-March, closed marks) periods. LT, AT, HT, low, ambient or high temperature; LF, HF, low or high feeding.

Table 1. Number of sexually immature (Im) and mature (M) cod in each group of treatment throughout the experiment.

Treatment	Males				Females			
	Im	M	N	Proportion mature	Im	M	N	Proportion mature
LT/HF	3	10	13	0.77	13	4	17	0.24
AT/HF		15	15	1.00	2	11	13	0.85
HT/HF	1	14	15	0.93	3	15	18	0.83
HT/LF	4	13	17	0.76	3	11	14	0.71

LT, AT, HT, low, ambient or high temperature; LF, HF, low or high feeding.

Table 2. Expected number of females having ovaries with early vitellogenic oocytes in different groups of treatment between early (November-December) and late (January-March) periods.

Treatment	Period		N
	Early	Late	
LT/HF	4		4
AT/HF	6	5	11
HT/HF	11	4	15
HT/LF	5	5	10

意であり ($r^2=0.685$, $p<0.001$, GLM), 卵黄形成中でも高給餌区の成長率は低給餌区より高いと考えられた。

各個体の卵黄形成開始時期を, 卵黄卵の成長量と水温 (積算) の関係式から推定した (Table 2)。自然水温区および高水温区では, 給餌量の多寡にかかわらず, 実験期間全般で卵黄形成が開始された。一方, 雌の低水温・高給餌区では, 17個体中4個体のみが実験期間中に卵黄形成を行っていたが, それらは全て実験期間の前半 (11~12月) に卵黄形成を開始していたと考えられた。高水温・高給餌区と高水温・低給餌区において卵黄形成開始時期に有意差はみられなかった ($p>0.05$, Fisher's Exact test)。このため, 両者の高水温区を込みにして解析を行った結果, 実験期間前半に卵黄形成を開始した個体は, 後半 (1~3月) に成熟開始した個体よりも, 実験期間前半のSGRが有意に高かった ($p<0.05$, U-test)。このことは, 個体における摂取エネルギーの多寡が卵黄形成開始に重要な役割を担っていることを示唆している。

4. 配偶子生産

排精 (開始) 個体における精巣重量および生殖腺熟度指数 (GSI; $GSI=100 \cdot GW/(BW-GW)$) には給餌量の影響がみられ, 高給餌区のそれらは低給餌区よりも有意に高かった ($p<0.05$, U-test; Fig. 3)。しかし, 排精個体における精巣重量とGSIは水温処理区間で有意差がみられなかった ($p>0.05$, KW-test)。卵黄形成後期の卵巣をもつ個体の孕卵数 (PF) および相対孕卵数 ($PF/(BW-GW)$) では, 給餌処理区間および水温処理区間において有意差は認められなかった ($p>0.05$, Fig. 3)。

HSIは排精個体の精巣重量に対して有意な影響を与え ($p<0.05$, GLM), 同じ全長でも, HSIの高い個体はHSIの低い個体よりもより多くの精子を生産することが示された。一方, 孕卵数とHSIの間には有意な関係がみられなかった ($p>0.05$)。

孕卵数を推定した卵黄形成後期の個体において, 退行卵をもつ個体の出現率はいずれの処理区でも比較的高かったが (57~83%), 各個体における退行の度合い (Intensity of atresia (IA), $IA=100 \times \text{退行卵} / (\text{卵黄卵} + \text{退行卵})$) は極めて低かった (0.27~3.14%)。また, カニュレーションにより採取された卵黄形成前期におけるIAもごくわずかであった (0~5%)。これらのことから, 実験期間中における水温レジームおよび摂餌量の変動は, 孕卵数にほとんど影響しないと考えられた。

5. まとめ

初回産卵魚の成長と生殖は水温や餌環境による影響を受けるとともに, 雌雄による違いもみられた。実験期間中における水温の変動幅は, 北海産大西洋マダラが冬季に経験する水温帯と一致する (Heessen and Daan, 1994)。しかし, 低水温区では大部分の個体の実験期間中, 卵黄形成を開始できなかった。これら未成熟個体のHSIは自然水温・高水温区の成熟魚のそれと有意差がなかったことから, 卵巣の成熟開始の抑制原因が体内における蓄積エネルギー量の欠乏にあったとは考えにくい (Roff, 1983; Rijnsdorp, 1990; Burton, 1994)。一方, 低水温区では, 少数であるが, 他の処理区の成熟魚と同様, 実験期間中に卵黄形成を正常に進行させていた個体がみられた。それら低水温区の成熟魚は, "水温が高かった" 実験期間前半に卵黄形成を開始させており, 実験期間全般にわたって卵黄形成を開始させた自然水温・高水温区とは異なった。これらのことは, 環境水温が卵黄形成の開始に対して重要な役割を果たしていることを示唆する。すなわち, 実験終了時に明らかとなった低水温区の未成熟個体は, 実験後半の水温レジームによって卵黄形成の開始が阻止されていたのではないかと考えられる。一方, 同水温区で実験前半に卵黄形成を開始した個体では, 実験後半の水温レジームは卵黄卵の退行を促すことなく, 卵黄卵の成長速度にのみ影響していたと推察される。雄魚

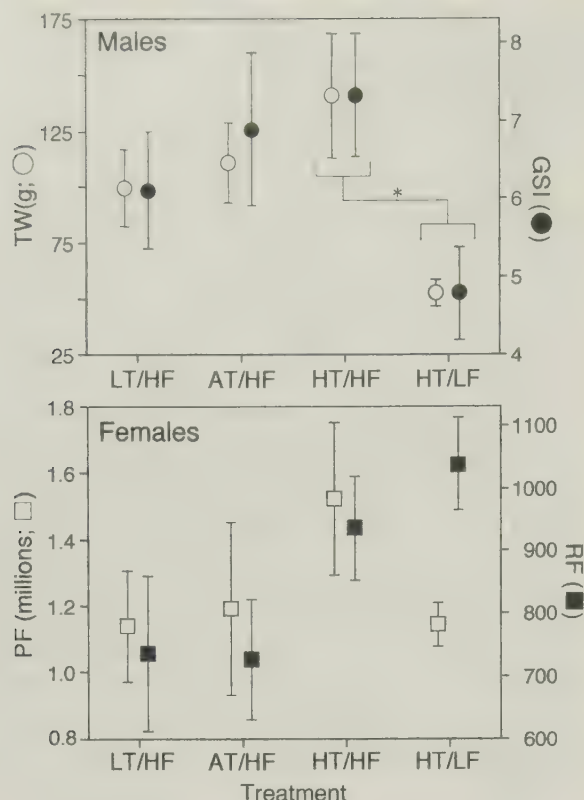


Fig. 3. Mean ($\pm$ S.E.) testicular weight (TW) and gonadosomatic index (GSI) of mature males, and mean ($\pm$ S.E.) potential fecundity (PF) and relative fecundity (RF) of mature females in different groups of treatment. Asterisk shows a significant difference between the two groups (Mann-Whitney U-test, $P < 0.05$). LT, AT, HT, low, ambient or high temperature; LF, HF, low or high feeding.

では、低水温・高給餌区の成熟魚の割合が自然水温・高給餌区あるいは高水温・高給餌区よりも低かったが、高水温・低給餌区と同様、大部分の個体が排精した (Table 1)。このため、生殖腺の成熟開始に対する環境水温の影響は雌雄によって異なると考えられる。

給餌量の多寡は、雌雄成熟魚の体成長率に影響を及ぼしたが、配偶子生産では雌雄で異なる応答がみられた。相対卵数は高・低給餌区ともに類似していたが、卵黄形成期間における高給餌区の体成長率は低給餌区よりも有意に高かった。これらのことは、大西洋マダラ初回産卵雌魚が摂取エネルギーの多寡にかかわらず、卵生産には体サイズに応じたある一定量のエネルギー投資しか行わず、残りのエネルギーを体成長の増加に配分していたことを示唆する。大西洋マダラでは、産卵中摂餌活動を一時的に停止するため (Fordham and Trippel, 1999)、産卵直前の体コンディションの悪化は産卵後における死亡率の増加を招くこと (Lambert

and Dutil, 2000)、経産卵魚は初回産卵魚よりも高い繁殖成功を収められること (Trippel, 1998) が知られている。このため、大西洋マダラ雌魚は初回産卵時には繁殖に対する投資を最小限に留めることにより、安全にそのイベントを過ごし、繁殖力が増加する来春の産卵に備えるのではないかと考えられる。一方、成熟雄魚ではHSIやGSIにおいて給餌量による影響がみられ、体内における高い蓄積エネルギーはより多くの精子生産をもたらすことが示された。また、高給餌区の精子運動速度は、同水温の低給餌区よりも有意に速かったことが確認されている (Yoneda and Wright, unpublished data)。大西洋マダラは雌雄一対が総排泄腔を向け合いながら遊泳し、産卵する'ventral mount'という産卵行動をとるが (Brawn, 1961; Hutchings *et al.*, 1999b)、卵の放出時間に対して精子の放出時間が極めて短いことから、産卵には複数のサテライト雄による受精の関与が認められている (Rakitin *et al.*, 2001; Bekkevold *et al.*, 2002)。若齢雄の放精可能期間は高齢魚に比べて短いものの、年齢による精子の質や受精能力などに差異はない (Trippel and Neilson, 1992; Trippel and Morgan, 1994)。このため、大西洋マダラ雄魚は、初回産卵であっても、摂取エネルギーに応じた最大限の繁殖投資を行うことによって、その年における高い繁殖成功を収めようとしているのではないかと考えられる。

これらの結果から、冬季における水温や餌環境の変動は、その年の大西洋マダラ産卵群の成熟率、産卵期間、配偶子生産に影響を及ぼすものと考えられる。現在、多くの大西洋マダラ個体群では、長年にわたる乱獲の影響により産卵親魚群の若齢化が顕著になっており、産卵親魚群において初回産卵魚の占める割合が高まっている (Trippel *et al.*, 1997; Hutchings, 2000)。このため、産卵期前の環境変動はそのような産卵親魚群における年間総卵生産および加入量に深刻な影響をもたらすかもしれない。

文 献

- Bekkevold D., Hansen M. M., and Loeschcke V., 2002: Male reproductive competition in spawning aggregations of cod (*Gadus morhua*, L.) *Mol. Ecol.*, **11**, 91-102.
- Bjornsson B. and Steinarsson A. 2002: The food-unlimited growth rate of Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **59**, 494-502.
- Brander K. M., 1994a: Patterns of distribution, spawning, and growth in North Atlantic cod:

- the utility of inter-regional comparisons. *ICES Mar. Sci. Symp.*, **198**, 406-413.
- Brander K. M., 1994b: Spawning and life history information for North Atlantic cod stocks. *ICES Coop. Res. Rep.* **205**, 1-150.
- Brawn V. M., 1961: Reproductive behaviour of the cod (*Gadus callarias* L.). *Behaviour*, **18**, 177-197.
- Burton M. P. M., 1994: A critical period for nutritional control of early gametogenesis in female winter flounder, *Pleuronectes americanus* (Pisces: Teleostei). *J. Zool.*, **233**, 405-415.
- Burton M. P. M., Penney R. M., and Biddiscombe, S., 1997: Time course of gametogenesis in North-west Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **54** (Suppl. 1), 122-131.
- Campana S. E., Mohn R. K., Smith S. J., and Chouinard, G. A., 1995: Spatial implications of a temperature-based growth model for Atlantic cod (*Gadus morhua*) off the eastern coast of Canada. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **52**, 2445-2456.
- Daan N., 1974: Growth of North Sea cod, *Gadus morhua*. *Neth. J. Sea Res.*, **8**, 27-48.
- Dutil J. D. and Brander K., 2003: Comparing productivity of North Atlantic cod (*Gadus morhua*) stocks and limits to growth production. *Fish. Oceanogr.*, **12**, 502-512.
- Fordham S. E. and Trippel E. A., 1999: Feeding behavior of cod (*Gadus morhua*) in relation to spawning. *J. Appl. Ichthyol.*, **15**, 1-19.
- Fry F. E. J., 1971: The effect of environmental factors on the physiology of fish, in "Fish Physiology" (ed. by Hoar W. S. and Randall, D. J.) , Academic Press, New York, pp.1-98.
- Godø O. R. and Haug T., 1999: Growth rate and sexual maturity in cod (*Gadus morhua*) and Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). *J. Northwest Atl. Fish. Sci.*, **25**, 115-123.
- Hansen T., Karlsen Ø., Taranger G. L., Hemre G-I, Holm J. C., and Kjesbu O. S., 2001: Growth, gonadal development and spawning time of Atlantic cod (*Gadus morhua*) reared under different photoperiods. *Aquaculture*, **203**, 51-67.
- Hattori T., Sakurai Y., and Shimazaki K., 1992: Maturation and reproductive cycle of female Pacific cod in waters adjacent to the southern coast of Hokkaido, Japan. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **58**, 2245-2252.
- Heessen H. and Daan N., 1994: Cod distribution and temperature in the North Sea. *ICES Mar. Sci. Symp.*, **198**, 244-253.
- Hutchings J. A., 2000: Collapse and recovery of marine fishes. *Nature*, **406**, 882-885.
- Hutchings J. A. and Myers R. A., 1993: Effect of age on the seasonality of maturation and spawning of Atlantic cod, *Gadus morhua*, in the North-west Atlantic. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **50**, 2468-2474.
- Hutchings J. A., Pickle A., McGregor-Shaw C. R., and Poirier, L., 1999a: Influence of sex, body size, and reproduction on overwinter lipid depletion in brook trout. *J. Fish Biol.*, **55**, 1020-1028.
- Hutchings J. A., Bishop T. D., and McGregor-Shaw C. R., 1999b: Spawning behaviour of Atlantic cod, *Gadus morhua*: evidence of male competition, mate choice, and a negative effect of fishing. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **56**, 97-104.
- Jobling M., 1988: A review of the physiological and nutritional energetics of cod, *Gadus morhua* L., with particular reference to growth under farmed conditions. *Aquaculture*, **70**, 1-19.
- Karlsen O., Holm J. C., and Kjesbu O. S., 1995: Effects of periodic starvation on reproductive investment in first-time spawning Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *Aquaculture*, **133**, 159-170.
- Kjesbu O. S., 1994: Timing of start of spawning in Atlantic cod (*Gadus morhua*) females in relation to vitellogenesis oocyte diameter, temperature, fish length and condition. *J. Fish Biol.*, **45**, 719-735.
- Kjesbu O. S., Lungsoyr J., Kryvi H., Witthames P. R., and Greer Walker M. 1991: Fecundity, atresia, and egg size of captive Atlantic cod (*Gadus morhua*) in relation to proximate body composition. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **48**, 2333-2343.
- Kjesbu O. S. and Holm J. C., 1994: Oocyte recruitment in first-time spawning Atlantic cod (*Gadus morhua*) in relation to feeding regime. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **51**, 1893-1898.
- Kjesbu O.S., Witthames P. R., Solemdal P., and Greer Walker M., 1998: Temporal variations in the fecundity of Arcto-Norwegian cod (*Gadus morhua*) in response to natural changes in food and temperature. *J. Sea Res.*, **40**, 303-321.

- Kraus G., Tomkiewicz J., and Köster F., 2002: Egg production of Baltic cod (*Gadus morhua*) in relation to variable sex ratio, maturity, and fecundity. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **59**, 1908-1920.
- Lambert Y., Dutil J. D., and Munro J., 1994: Effects of intermediate and low salinity conditions on growth rate and food conversion of Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **51**, 1569-1576.
- Lambert Y. and Dutil J. D., 1997: Can simple condition indices be used to monitor and quantify seasonal changes in the energy reserves of Atlantic cod (*Gadus morhua*)? *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **54** (Suppl 1), 104-112.
- Lambert Y. and Dutil J. D., 2000: Energetic consequences of reproduction in Atlantic cod (*Gadus morhua*) in relation to spawning level of somatic energy reserves. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **57**, 815-825.
- Marshall C. T., Yaragina N. A., Lambert Y., and Kjesbu O. S. 1999: Total lipid energy as a proxy for total egg production by fish stocks. *Nature*, **402**, 288-290.
- Marteinsdottir G. and Begg G. A., 2002: Essential relationships incorporating the influence of age, size and condition on variables required for estimation of reproductive potential in Atlantic cod *Gadus morhua*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **235**, 235-256.
- McIntyre T. M. and Hutchings J. A., 2003: Small-scale temporal and spatial variation in Atlantic cod (*Gadus morhua*) life history. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **60**, 1111-1121.
- Olsen E. M., Kuntsen H., Gjøsaeter, J., Jorde, P. E., Kuntsen, J. A., and Stenseth, N. C., 2004: Life-history variation among local populations of Atlantic cod from the Norwegian Skagerrak coast. *J. Fish Biol.*, **64**, 1725-1730.
- Rakitin A., Ferguson M. M., and Trippel E. A., 2001: Male reproductive success and body size in Atlantic cod *Gadus morhua* L. *Mar. Biol.*, **138**, 1077-1085.
- Rätz H-J. and Lloret J. 2003: Variation in fish condition between Atlantic cod (*Gadus morhua*) stocks, the effect on their productivity and management implications. *Fish. Res.*, **60**, 369-380.
- Rideout R. M. and Burton M. P. M., 2000: The reproductive cycle of male Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) from Placentia Bay, Newfoundland. *Can. J. Zool.*, **78**, 1017-1025.
- Rideout R. M., Burton M. P. M., and Rose G. A., 2000: Observations on mass atresia and skipped spawning in northern Atlantic cod, from Smith Sound, Newfoundland. *J. Fish Biol.*, **57**, 1429-1440.
- Rijnsdorp A. D., 1990: The mechanism of energy allocation over reproduction and somatic growth in female North Sea plaice, *Pleuronectes platessa* L. *Net. J. Sea Res.*, **25**, 279-290.
- Roff D. A., 1983: An allocation model of growth and reproduction in fish. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **40**, 1395-1403.
- Sakurai Y. and Hattori T., 1996: Reproductive behaviour of Pacific cod in captivity. *Fish. Sci.*, **62**, 222-228.
- Staurnes M., Rainuzzo J. R., Sigholt T., and Jørgensen L., 1994: Acclimation of Atlantic cod (*Gadus morhua*) to cold water. Stress response, osmoregulation, gill lipid composition and gill Na⁺ K⁺ -ATPase activity. *Comp. Biochem. Physiol.*, **109A**, 413-421.
- Svåsand T., Jørstad K. E., Otterå H., and Kjesbu O. S., 1996: Differences in growth performance between Arcto-Norwegian and Norwegian coastal cod reared under identical conditions. *J. Fish Biol.*, **49**, 108-119.
- Trippel E. A., 1998: Egg size and viability and seasonal offspring production of young Atlantic cod. *Trans. Am. Fish. Soc.*, **127**, 339-359.
- Trippel E. A. and Neilson J. D., 1992: Fertility and sperm quality of virgin and repeat-spawning Atlantic cod (*Gadus morhua*) and associated hatching success. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **49**, 2118-2127.
- Trippel E. A. and Morgan M. J., 1994: Age-specific paternal influences on reproductive success of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) of the Grand Banks, Newfoundland. *ICES Mar. Sci. Symp.*, **198**, 414-422.
- Trippel E. A., Kjesbu O. S., and Solemdal P., 1997: Effects of adult age and size structure on reproductive output in marine fishes, in "Early Life History and Recruitment in Fish Populations" (ed. by Chambers, R. C. and Trippel, E. A.),

- Chapman and Hall, New York, pp.31-62.
- Van Der Kraak G. and Pankhurst N. W., 1997: Temperature effects on the reproductive performance of fish, in "Global Warming Implications for Freshwater and Marine Fish" (ed. by Wood, C. M. and McDonald, D. G.), Cambridge University Press, Cambridge, pp.159-176.
- Wroblewski J. S., Hiscock H. W., and Bradbury I. R., 1999: Fecundity of Atlantic cod (*Gadus morhua*) farmed for stock enhancement in Newfoundland bays. *Aquaculture*, **171**, 163-180.
- Yaragina N. A. and Marshall C. T., 2000: Trophic influences on interannual and seasonal variation in the liver condition index of Northeast Arctic cod (*Gadus morhua*). *ICES J. Mar. Sci.*, **57**, 42-55.
- Yoneda M. and Wright P. J., 2004: Temporal and spatial variation in reproductive investment of Atlantic cod *Gadus morhua* in the northern North Sea and Scottish west coast. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **276**, 237-248.
- Yoneda M. and Wright P. J., 2005a: Effects of varying temperature and food availability on growth and reproduction of first-time spawning female Atlantic cod. *J. Fish Biol.*, **67**, 1225-1241.
- Yoneda M. and Wright P. J., 2005b: Effect of temperature and food availability on reproductive investment of first-time spawning male Atlantic cod, *Gadus morhua*. *ICES J. Mar. Sci.*, **62**, 1387-1393.

カタクチイワシの成熟・産卵特性から産卵調査を設計する

靄田 義成*

Planning of Egg Stock Assessments According to Reproductive Characteristics of Japanese Anchovy

Yoshinari TSURUTA*

Abstract In order to enhance the accuracy of the Egg Production Method applied for Japanese anchovy with a relatively long spawning season and short time interval between spawning episodes, the effect of daily change in developmental stage of ovary on gonosomatic index was discussed. Moreover, the effect of water temperature, food ration and population density on batch fecundity and spawning frequency was formulated definitely in reared anchovy. As a result, the best sampling time of adult female is about 1800 hour just before the beginning of spawning. The number in a batch fecundity per gram body weight changed about 33 ind. per one centigrade and 38 ind. per one percent of food ration respectively. Population density also affected exponentially on the number in a batch fecundity. Therefore, it was necessary to carry out the investigation of food environment and school size of anchovy at the same time.

Key words: Japanese anchovy, reproductive parameter, batch fecundity, spawning frequency, water temperature, food availability, population density, stock assessment

カタクチイワシは、マイワシ、サバ類等の多獲性浮魚類の中で、漁獲量の変動幅は小さく、資源量も安定している。安定の原因として、カタクチイワシが、7カ月の長期にわたり産卵し、同一個体が餌料環境に迅速に反応して産卵する高い再生産調節能力を有していることに起因すると考えられている(靄田, 1992)。1970年代半ば以降マイワシ資源量の増大に伴ってカタクチイワシの資源量が減少した。この減少過程における生態的变化の特徴として、カタクチイワシ太平洋系群では、肥満度の低下、被鱗体長12cm以上の漁獲物の減少、2月～3月における産卵量の減少などが挙げられる(船越, 1990; 三谷, 1986; 銭谷と木村, 1997)。逆に、1990年代に入りカタクチイワシの資源量が増加すると、肥満度は増加傾向を示し、体長12cm以上の大型魚も多量に漁獲され、分布域も道東沿岸や三陸遥か

沖合にまで拡大し、そこでの産卵開始水温は、沿岸域に比べて5℃以上も低くなっていることが確認されている(Funamoto and Aoki, 2002; 靄田と高橋, 1997)。

近年、日本海中部沿岸域において、海洋の物理的環境変化と関連したプランクトンの種類組成とその量的変化が、カタクチイワシの肥満度や成熟・産卵に影響を及ぼすことが明らかにされている(森本ら, 2003)。自然の産出卵をネット採集して、親魚量・資源量を推定する方法において、一回当たり産卵数や産卵頻度などは重要なパラメーターである。これらのパラメーターの精度を高めるためには、成熟・産卵特性にもとづく調査設計を立てることが重要である。

ここでは、野外調査や飼育実験で得られた成果をできるだけ定式化することにより本種の産卵特性を明確にし、産卵調査や卵数法の改善に資することを目的とする。

1. 成熟・産卵の特徴

カタクチイワシ太平洋系群の産卵は、4月から10月までの7カ月に及び産卵盛期にはおよそ1.5日の周期で産卵する（鶴田, 1992）。このため、産卵盛期の卵巢の成熟状態は迅速に日周変化する。Fig. 1は、水温が25℃を超える産卵盛期の9月中旬に、4つの水槽で飼育中のカタクチイワシをおよそ6時間間隔で1水槽の全個体をそれぞれ取り上げた時の雌個体の卵巢の成熟段階別の出現状況と前日の産卵数および推定産卵尾数（水温-産卵数関係から個体あたり産卵数を6,800粒として尾数を計算）を示している。本種は日没1時間後に追尾行動を開始し、その後20時頃から23時頃までに産卵する（Aoki and Tsuruta, 1989）。このFig.から、

産卵直後の卵巢は卵黄球期前期の成熟段階になり半日経過するとそれらは卵黄球期後期に発達すること、その卵巢に見られる排卵痕は排卵後21時間経過すると全て消失すること、産卵時刻を21時とすると最終成熟は産卵の15時間前から始まり核の崩壊は産卵3時間前に起こることなどが読み取れる。

天然個体群の産卵頻度を、排卵痕または最終成熟期の卵母細胞を保有する個体数の割合から求める場合、高水温の時期には、早朝6時のサンプルで既に排卵痕の消失した個体が認められることから、産卵頻度は過小評価される可能性がある。

Fig. 2は相模湾の定置網で早朝6時頃水揚げされた本種の生殖腺指数と排卵痕保有個体出現頻度の季節変化を示している。産卵終期の10月を除いた4月から9

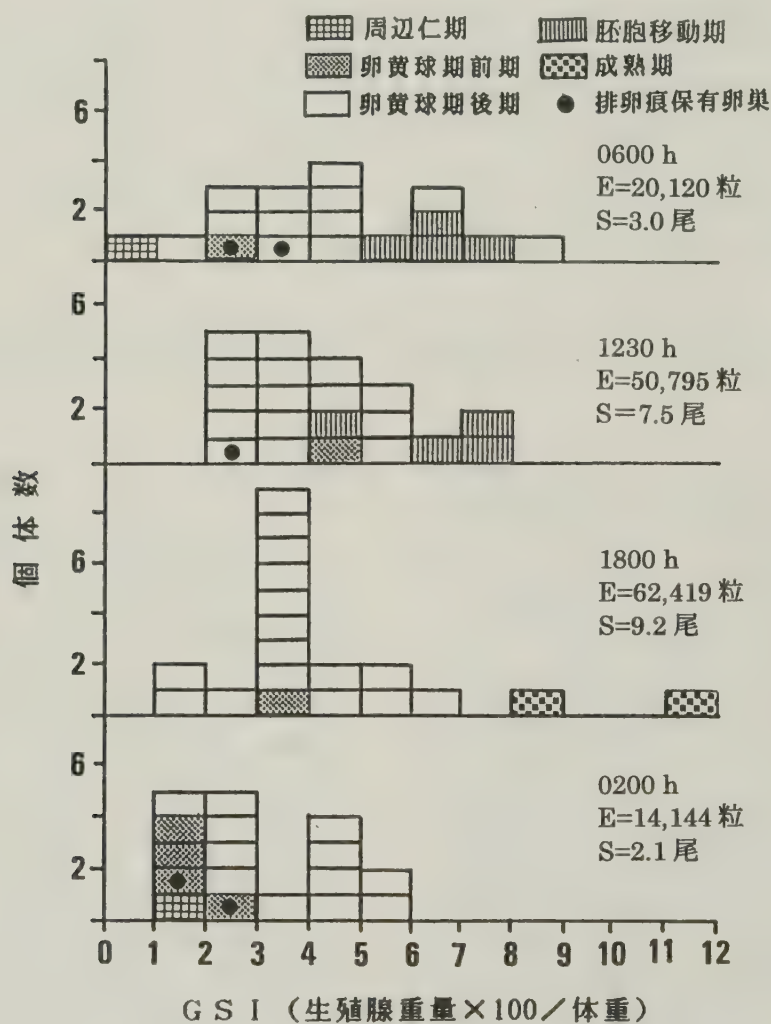


Fig. 1. Developmental stage of ovaries each sampling time. The developmental stage of ovary is represented by the histological maturity stage of the most advanced group of oocytes in the ovary. E: number of eggs spawned, S: number of spawning females estimated from the batch fecundity (6,800) in September.

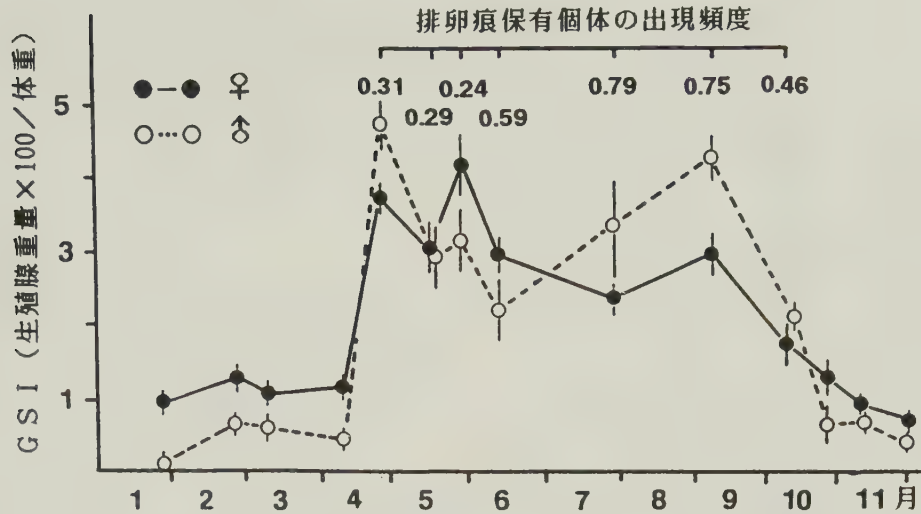


Fig. 2. Seasonal change in gonosomatic index in anchovy collected during 1984 field survey. The incidence of individual with postovulatory follicles indicates as the females with postovulatory follicles divided by the total number of females. Each point represents the mean(±SD) gonosomatic index.

月までの生殖腺指数と排卵痕保有個体出現頻度との間には負の関係が認められる。すなわち、頻繁に産卵しているとき、早朝に採集した標本の生殖腺指数は、産卵が活発でないときに比べて低い値を示す。また、1984年から1986年までの3ヵ年の排卵痕保有個体数の出現頻度を比較すると、肥満度が極端に悪かった1986年6月は例年の3分の1の値を示し、栄養状態が産卵頻度に大きく影響することを示した(鶴田, 1992)。

本種は、資源水準により分布域や産卵生態を変化させる。資源水準の低い時代のカタクチイワシ太平洋系群は、仙台湾以南の沿岸域にのみ分布しおよそ15℃で産卵を開始するが、資源水準が高くなると、沿岸域では水温が低下する2, 3月にも産卵が行われ、沖合域ではおよそ10℃の低水温で産卵することが推測されている(Funamoto and Aoki, 2002; 鶴田と高橋, 1997; 銭谷と木村, 1997)。産卵時刻も沖合域では24時前後と遅くなる(鶴田と高橋, 1997)。

飼育実験によると、本種の成熟の開始と終了には日長時間が影響し、およそ12.5時間以上で成熟が開始される。また、産卵には水温がトリガーとして働き15℃になると産卵する(鶴田, 1992; Kawaguti *et al.*, 1990)。

以上のことは、野外調査において産卵頻度、生殖腺指数などの値を求める場合には、資源水準に応じて、海域や時期別に採集した標本を比較できるように調査設計することが重要であることを示唆している。

2. 再生産力調節の特徴

本種は春季から秋季の長期に亘って産卵する。この間の生息水温は15℃～30℃近くまでと広く、このため餌料環境も大きく変化する。産卵期の群れは、索餌期の群れに比べて極端に小さく、群の大きさ(個体群密度)が産卵行動に関与していることが予想される。ここでは、1日あたりの換水率約1,500%の長方形4トン水槽で水温、餌量及び個体群密度の3つの要素が、1回当たり産卵数、産卵頻度、及び卵の大きさにどのくらいの早さでどの程度影響するか定式化することにより再生産力の特徴を示す。

1) 水温の産卵数への影響

本種の1回当たり産卵数(batch fecundity)は成熟期の卵巣の最大卵径群卵数に等しい。Fig. 3は、水温と体重1g当たりのbatch fecundity (relative batch fecundity, RBF)および産出卵サイズとの関係を示している。RBFと水温とは次式で表される。

$$B = 32.77T - 290.85 \quad (\text{水温} 15 \sim 26^{\circ}\text{C}) \quad \text{--- (1)}$$

ここでBはRBF、Tは水温である。

RBFは水温が高くなるにつれ直線的に増加する。水温が1℃変化するとおよそ33個/g増減し、24℃までは卵サイズと負の関係を示す。RBFと卵サイズは補償関係にあり、高水温時の卵ほど小さくなるため自栄養期間が短く、餌環境が生残にシビアに影響することを示唆している。

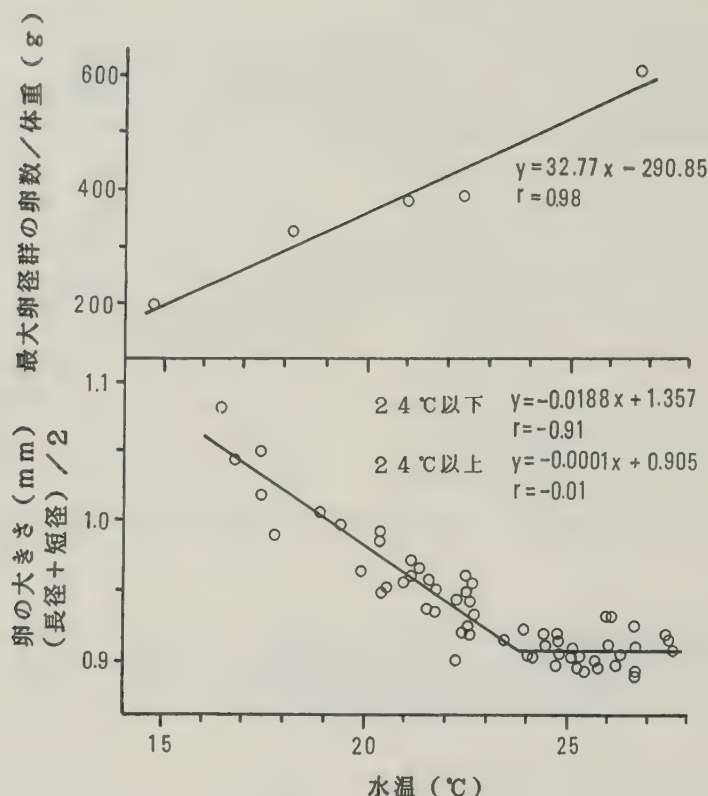


Fig. 3. Relationship between water temperature and two egg-production variables : batch fecundity and egg size.

2) 餌量の産卵数への影響

図4は、水温が23～26℃の産卵盛期に当たる7月下旬から8月上旬の日間摂餌率と体重1g当たり日間産卵数との関係および産卵終期にあたる9月下旬から11月上旬のものを示している。産卵盛期における両者の関係は次式で表される。

$$E_F = 38.45F - 16.61 \quad (\text{水温} 23 \sim 26^\circ\text{C}) \quad \text{--- (2)}$$

ここで E_F は体重1g当たりの日間産卵数、 F は日間摂餌率(%)である。

給餌量が0.8～2.5%の範囲内では産卵数は摂餌率の増大とともに直線的に増加する。餌量が1%変化すると体重1g当たりおよそ38個増減する。餌量を人為的に変化させると、産卵数は10日後以降に変化を示し、体維持以下の餌量条件になると卵サイズが小さくなる(鶴田, 1992)。

3) 個体群密度の産卵数への影響

Fig. 5は水温が23～26℃の産卵盛期における日間摂餌率2%時の産卵数と個体群密度との関係を示している。その関係は次の式で表される。

$$E_p = 169.83 e^{-0.0274P} \quad (\text{水温} 23 \sim 26^\circ\text{C}, \text{日間摂餌率が体重の2\%の時}) \quad \text{--- (3)}$$

ここで E_p は体重1g当たり日間産卵数、 P は個体群密度である。

体重1g当たり産卵数は個体群密度の増大とともに指数関数的に減少する。一方、水槽の体重1g当たりの産卵数は個体群密度が35尾の時に最大となり、それを超えると減少した。密度35尾の雌1尾体重1g当たり産卵数は10尾時の50%を示し密度効果が増大して産卵能力を低下させる。密度変化の影響は2日後に現れ極めて迅速であった(鶴田, 1992)。また、Fig. 6に示すように、個体群密度は群れの遊泳速度にも大きく影響を及ぼし、密度が高くなるにつれ遊泳速度は速くなるが、ある閾値を過ぎると低下することから、密度が高くなると個体間の干渉が高まり産卵行動を阻害し、ストレスにより卵巣成熟も影響を受けるものと思われる。密度効果の要因の一つが生物学的条件づけであることも推測されている(鶴田, 1992)。

4) 3要素の産卵数への影響

上記の関係式(3)の個体群密度の減少係数が餌量条件によって変化しないと仮定すると、餌量および個体群密度と日間産卵数との間には次の関係式が導かれる。

$$E_{FP} = (108.33F - 46.82) e^{-0.0274P} \quad \text{--- (4)}$$

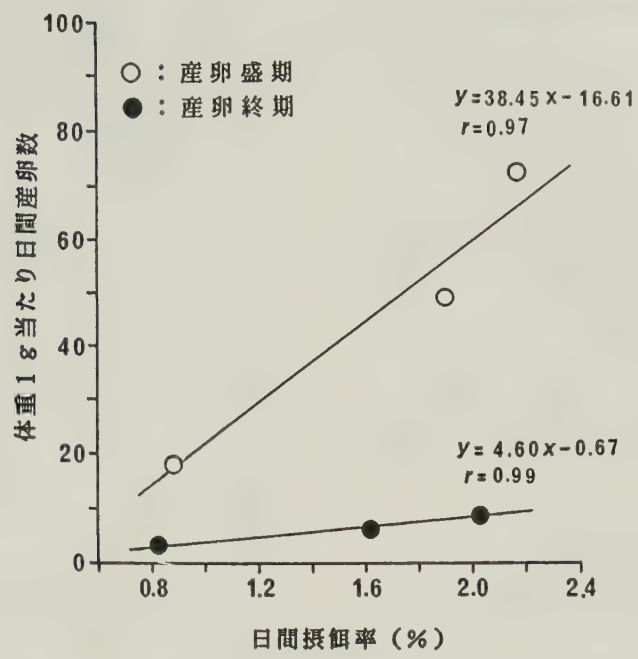


Fig. 4. Relationship between food rations and numbers of eggs spawned per gramme body weight.

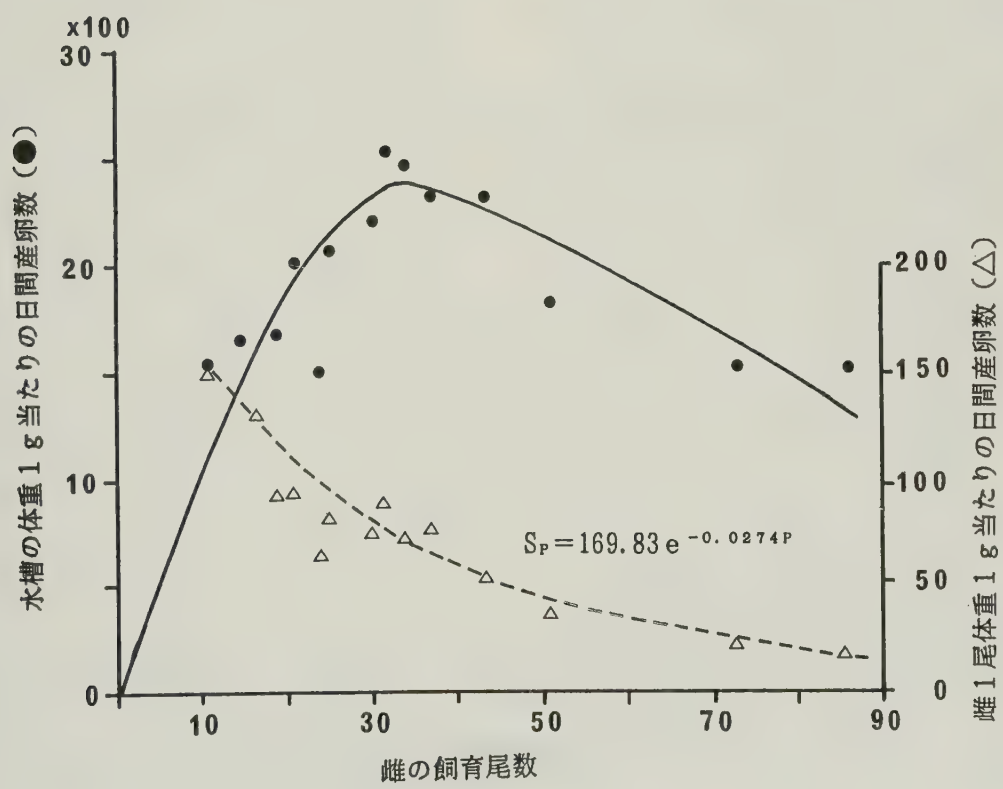


Fig. 5. Relationship between population density and numbers of eggs spawned per gramme body weight.

ここで E_{FP} は日間産卵数、 F は日間摂餌率、 P は個体群密度である

(4)式は水温条件が23℃から26℃の間に得られた資料を用いており、水温24.5℃の時の近似式とみなせる。水温の成熟・産卵速度への影響を、間接的に、水温とRBFの関係式(1)の $T=24.5^{\circ}\text{C}$ の時のRBF 518.02からの変化率 α を代用すると、水温、摂餌率、個体群密度の影響を入れた産卵数は次式で表せる。

$$\alpha = (32.77T - 290.85) / 518.02 \quad \text{--- (5)}$$
$$E_{FPT} = (32.77T - 290.85) / 518.02 \times (108.33F - 46.82) e^{0.0274P} \quad \text{--- (6)}$$

ここで E_{FPT} は日間産卵数、 T は水温、 F は日間摂餌率、 P は個体群密度である。

5) ある時期内の産卵数と産卵頻度

雌1尾がある期間に産出する卵数は次式で求めることができる。

産卵数＝期間×体重×体重1g当たり日間産卵数

すなわち $E_{\Delta t} = t \times w \times [(32.77T - 290.85) / 518.02] \times (108.33F - 46.82) e^{0.0274P}$ --- (7)

ここで $E_{\Delta t}$ は期間 Δt の産卵数、 t は日数、 w はg単位の魚の平均体重、 T は水温、 F は日間摂餌率、 P は個体群密度である。

また産卵頻度（ I ）は次式で求めることができる。

産卵頻度＝体重1g当たり日間産卵数／RBF

すなわち $I = [(32.77T - 290.85) / 518.02] \times (108.33F - 46.82) e^{-0.0274P} / (32.77T - 290.85)$

$= 518.02 / (108.33F - 46.82) e^{-0.0274P}$ --- (8)

ここで I は産卵頻度、 T は水温、 F は日間摂餌率、 P は個体群密度である。

3. 産卵調査設計への提言

カタクチイワシは本邦沿岸海域に分布する魚類の中でもっとも長い産卵期間をもち、同一個体が短い間隔で産卵する。このため資源量推定法として卵数法が採用されている（今井ら，1998；Alheit，1993；Lasker，1985）。この方法では、パラメーターとして1回当たり産卵数、産卵頻度、生殖腺指数などの生物学的特性と水温が用いられている。これらパラメーターの発現の仕組みを知り、産卵調査の設計に活かすことは推定値の精度向上を図る上で重要である。

RBFは、(1)式が示すように、水温の影響を強く受ける。RBFは卵サイズと負の関係を示し、両者は補償関係にある。高水温時の卵ほど餌環境の影響を強く受けることから、餌料環境の調査を並行して行うことが肝要であろう。また、高水温時には、基礎代謝速度が高く、高頻度で産卵が可能性である。このため群れの生殖腺指数は採集した時刻で変動する。生殖腺指数とbatch fecundityを求めるには、成熟期の吸水卵が認め

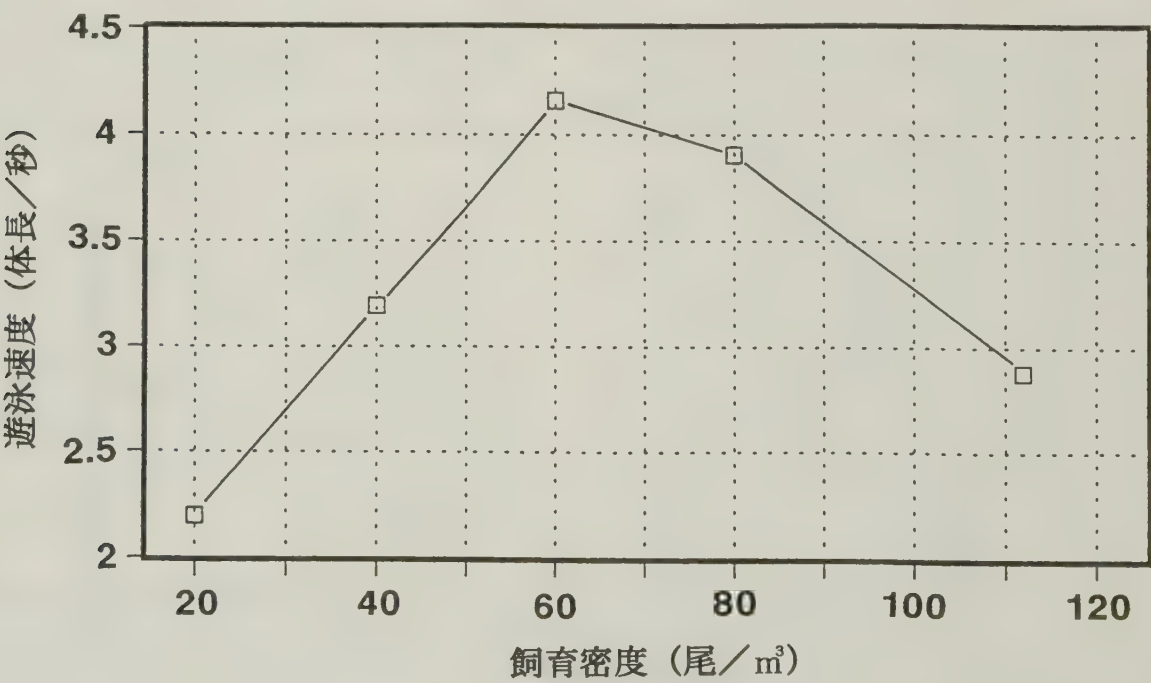


Fig. 6. Relationship between population density and swimming speed of the reared anchovy.

られる産卵直前の18時頃に採集した標本を使用することが望ましい。また、その標本が得られない場合には補正の工夫が必要であろう。また、産卵頻度については、成熟期の吸水卵が認められる産卵直前の18時頃から産卵後3,4時間を経た2時頃までに採集した標本を用いるのが最も良い。

(2) 式が示すように、餌量が1%変化すると体重1g当たり産卵数は38個増減し、環境変化の約10日後には産卵数に現れ、その反応は他の魚種に比べきわめて早い(鶴田, 1992)。このため、栄養状態の指標となる肥満度又はDNA/RNA比を測定しておくことは調査間隔を決める上で大切である。また、餌量条件が体維持以下になると卵サイズも小さくなることから、採集卵のサイズの広がりをチェックしておくことは、餌環境経歴を知る上で必要であろう。

個体群密度が再生産力に及ぼす影響に関する野外での知見は、サケ類を除いて、多獲性浮魚類におけるこれまでの産卵調査では得られていない。飼育実験の結果ではあるが、(3) 式から明らかなように、個体群密度の増大とともに体重1g当たり産卵数は指数関数的に減少し、個体当たり日間産卵量は35尾では10尾の時の50.4%に減少し、産卵間隔は2.5倍に延びた。産卵間隔が延びると卵母細胞が吸収される機会が多くなりbatch fecundityが減少する(鶴田, 1992)。この間のbatch fecundityの1日当たり減少率は約20%と推定された。また、産卵しなくなる雌個体群密度は、水温20℃、日間摂餌率2%の場合、計算式(6)から200尾と求められ、1トン当たりの雌密度は50尾と推定された。

ソナーによる野外調査において、活発に産卵をしているカタクチイワシの昼間の群れの大きさは、最長径5~30m、厚さ4~15m、生息水深9~19mで、薄暮になると分散して薄層になり、産卵のため個体間間隔が広がる(Hewitt, 1975)。カタクチイワシの群れの大きさは索餌期と産卵期で異なり、産卵期に小さい(Graves, 1977; Hewitt, 1975)。ソナーにより産卵群の群れの大きさを並行して調査することは、生息水深と水温情報を正確にリンクさせることとともに、資源水準による群れの大きさと産卵頻度との関係の知見を得る上で今後重要となるであろう。

謝 辞

本論文作成において、独立行政法人水産総合研究センター中央水産研究所の清水昭男博士には多大のお世話になった。また、本論文の再生産力調節の特徴の項は、元東海区水産研究所(現中央水産研究所)の廣瀬慶二博士及び水産工学研究所の丹羽洋智博士との共同

作業によるもので、詳細はこれから報告する。ここに記して感謝する。

要 旨

7ヶ月に亘る産卵期間を持ち、同一個体が頻繁に産卵するカタクチイワシの資源量推定に適用されている産卵調査手法(卵数法)の精度向上を図るため、卵数法のパラメーターである水温、生殖腺指数、1回当たり産卵数及び産卵頻度について、成熟・産卵の日周変化と生殖腺指数との関係、水温、餌量及び個体群密度と産卵数・産卵頻度との関係を飼育実験の結果を基に定式化し、産卵調査設計に当たっての改善点を指摘した。

キーワード: 生殖腺指数, 産卵数, 産卵頻度, 水温, 餌量, 個体群密度, 産卵調査

文 献

- Alheit J., 1993: Use of the daily egg production method for estimating biomass of clupeoid fishes: a review and evaluation. *Bull. Mar. Sci.*, **53**, 750-767.
- Aoki I. and Tsuruta Y., 1989: Observation on the reproductive behavior of Japanese anchovy *Engraulis japonica* in captivity. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **55**, 255-259.
- 船越茂雄, 1990: 遠州灘, 伊勢・三河湾およびその周辺海域におけるカタクチイワシの再生産機構に関する研究. 愛知水試研究業績B集, **10**, 1-208.
- Funamoto T. and Aoki I., 2002: Reproductive biology of Japanese anchovy off the Pacific coast of eastern Honshu, Japan. *J. Fish Biol.*, **60**, 154-169.
- Graves J., 1977: Photographic method for measuring spacing and density within pelagic fish schools at sea. *Fish. Bull. U.S.*, **75**, 230-234.
- Hewitt, R., 1975: Sonar mapping in the California current area: a review of recent developments. *CalCOFI Rep.*, **76**, 149-154.
- 今井千文, 楫取和明, 田島良博, 中村元彦, 内山雅史, 山田浩且, 1998: 水温情報を用いた卵数法によるカタクチイワシ本州太平洋系群の資源量推定. 水産海洋研究, **62**, 356-368.
- Kawaguti K., Yamasita Y., and Hayashi A., 1990: Some aspects of spawning of the reared Japanese anchovy (*Engraulis japonicus* H.) in relation to the photoperiod, water temperature and

- starvation. *Bull Jpn. Soc. Fish. Oceanogr.*, **54**, 364-372.
- Lasker R., 1985: An egg production method for estimating spawning biomass of pelagic fish: application to the northern anchovy, *Engraulis mordax*. *NOAA Tech. Rep. NMFS*, **36**, 1-99.
- 三谷 勇, 1986: 資源の衰退期におけるカタクチイワシの肥満度の変化について. 神奈川水試報, **7**, 35-43.
- 鶴田義成, 1992: カタクチイワシの成熟・産卵と再生産力の調節に関する研究. 水工研報, **13**, 129-168.
- 鶴田義成, 高橋章策, 1997: 黒潮属流域および混合水域におけるカタクチイワシ *Engraulis japonicus* の産卵生態. 北水研報, **61**, 9-15.
- 森本晴之, 後藤常夫, 井野慎吾, 内山 勇, 久田哲二, 和田洋藏, 志村 健, 渡辺秀洋, 高橋 卓, 2003: 日本海中部沿岸域におけるカタクチイワシ2002年春季産卵群の肥満度・成熟と餌料環境. 水産海洋学会研究発表大会, 講演要旨集, 69-70.
- 銭谷 弘, 木村 量, 1997: 太平洋岸域のカタクチイワシの資源回復に伴う2~3月産卵量の増加. 日水誌, **63**, 665-761.

マイワシの成熟・産卵を追った10年

白石 学*

魚類の成熟・産卵は環境要因の影響を受けることが一般に知られている。しかし、広い範囲を回遊するマイワシのような魚類の成熟産卵過程と環境要因の詳細な関係を明らかにすることは大変難しく、連続して過程を追いかけることも困難である。本稿で述べる研究は平成元年～10年に実施されたバイオコスモスプロジェクト「農林水産生態秩序の解明と最適制御に関する総合研究」（農林水産技術会議事務局主催）の「浮魚制御チーム」の中で行われたマイワシの変動要因を解明するための一課題「成熟制御システムによるマイワシ産卵条件の解明」成果報告の一部であり、この困難な課題への挑戦例として紹介する。この課題では、マイワシを実際に飼育して実験的手法により水温と給餌量を変化させ、それらの要因が卵黄形成の開始時期や成熟過程に与える影響について検討した。

ここで紹介する内容は、その中の、①天然海域では困難であるマイワシの成熟・産卵過程と環境要因の関連を飼育条件下で明らかにする。の部分である。具体的には、飼育下で水温や餌の量や質等の環境要因を変化させた場合に卵黄形成・成熟がどのように変化するかを追跡した。当プロジェクト研究ではこの他にも、②天然海域での成熟・産卵状況。③産卵行動。④飼育条件下より得られた卵からふ化した仔魚の大量死亡時期。等についても検討を試みたが、ここでは省略する。

手 法

マイワシは外見では雌雄の判別がつかないため、筋肉内に磁気TAGを埋め込み個体識別を行うとともに、免疫学的方法により、血液中の卵黄タンパク（ビテロジェニン）の有無から雌雄判別を行った。また、毎月の採血により個体別の卵黄タンパクの増減や性成熟に関与しているステロイドホルモン（エストラジオール等）の変化を追跡し成熟状態を判定した。一方、TAGを埋め込んでいない個体は採血を行うと共に生殖腺の発達を調べるために卵巣を取り出し、生殖腺組織像、ステロイドホルモン、卵黄タンパク量の関係から、TAGを埋め込んだ個体の生殖腺の発達状態を推定する

のに用いた。この手法の利点は同じ個体から連続して多くの正確なデータを取ることができ、環境変化に対する個体ごとの卵黄形成過程や成熟過程の生理反応が追跡できることである。

模擬天然条件下における生殖年周期の把握は、8～9月に約27℃の最高水温に達し2月に約13℃の最低水温になる20トンの屋外水槽で飼育したマイワシを用いて行った。また、環境条件を変えた飼育実験は二種類行い、実験1では卵黄形成以前の9月までの環境が卵黄形成にどのように影響するかを調べることを目的とした。環境条件として、水温については水温無調整区（自然の水温で実験期間中の水温は18～27℃）と水温一定区（水温15℃で一定）の2つを設定した。餌量条件は各水温区で一日に体重当たりの2％を与えるグループと1％を与えるグループ、さらに15℃区のみ1日当たり体重の0.5％を与える区を設定した。実験は6～8月まで行い、9月に肥満度と卵黄形成を開始した個体の割合を調べた。実験2は9月以降、成熟に向けての生殖腺発達時期の検討を行った。給餌率は2％と十分な一定量にし、水温条件を15℃と自然水温に設定して卵黄タンパクの出現状態を追跡した。

結 果

生殖年周期

模擬天然条件においては、水温が高い夏季には生殖腺の発達は見られず、卵黄形成が開始されるのは水温が下がり始める9月からであった。この時期に性成熟に関与するステロイドホルモン（エストラジオール等）の分泌も活発になり、それにとまってGSIも高くなることが明らかとなった。

実験1

9月における肥満度は6～8月までの給餌量を反映し、同一水温内では、給餌量が多いグループは少ないものより有意に肥満度が高くなるという結果となった。注目すべき点は同じ餌の量であれば、肥満度は水温の高低には影響されないという結果が出た。ところが卵黄形成の様子が異なっていた、卵黄形成を開始した個

体の割合と給餌量並びに水温の関係をみると、給餌量が多いグループでは卵黄を形成を開始する割合が高くなることがわかった。水温別に比較すると餌の量が同じ場合には、低い水温で卵黄形成を開始する個体が多くなった。即ち、同じ餌量を与えても水温により再生産能力が違うことが示された。また、一日当たり体重の0.5%の餌量では、水温が低いにも関わらず卵黄タンパクは確認されず、卵黄形成も開始されなかった。即ち卵黄形成に必要な餌量は、それ以上と言うことになる。

実験 2

9月における血中の卵黄タンパク量は、卵黄形成開始直後という成熟状態を反映して、総ての群が低い値となったが、10月から15℃区で卵黄タンパク量が増加し、活発な卵黄形成を行っていることが示された。餌が十分に多いにもかかわらず、水温無調整区では卵黄形成を行う個体の割合が低かったことから、高水温はマイワシの卵黄形成を抑制する効果があることが明らかとなった。水温無調整区では15℃区よりも肥満度が高い傾向があったが、これは卵黄形成が進んでいないためと推察された。

以上、これらの実験結果からマイワシの卵黄合成活性は水温と9月以前の餌の量の両方の影響を受け、その履歴が再生産に大きく影響することが推察された。

まとめ

餌量の多少により栄養蓄積（例えば脂質など）の多少が決まることは、多くの魚類で確認されている。一連の実験によって、マイワシの場合は夏季の餌量の多少が成長のみならず、卵黄形成開始時期や開始個体の割合にも影響をおよぼすことが明らかとなった。また、

卵黄形成や成熟に必要な餌量の限界点がマイワシの場合一日当たり体重の0.5%～1%の間にあることも示された。水温の高低は卵黄形成や成熟にとって重要な要因であり、餌量が一定であれば、低い水温において卵黄形成を開始する個体が多くなる。即ち、低水温で餌の量が多い環境がマイワシの再生産にとって好条件であると言える。

また、これらの実験結果から、次のことも推察される。餌条件が満たされていれば、多少の水温変動の影響は回避することが出来る。しかし餌の量が少なく、栄養状態が悪い場合には、水温変動の影響を受けやすくなる。即ち蓄積された栄養は、水温の高低により成長や身体の維持に回されるか再生産にまわされるかが決定されるのであろう。

当プロジェクトにおいては、さらに、LHRHアナログのコレステロールペレットを投与したマイワシを用いて人為的な産卵実験を行い、排卵後濾胞の経時的変化や産卵頻度等に及ぼす水温等の影響についても調べたが、これらについては別の機会に述べることにしたい。この他にも、1. 卵量を決めているのは何か？ 2. マイワシが産卵するための最適条件や多くの卵を産むための条件は何か？等、今後明らかにして行かなくてはならない項目が山積みされている。

おわりに

以上、簡単ではあるが、この紹介文がさらなる探求への興味を呼び、若手研究者による新たな研究のアイディア、考え方等をもたらすのみでなく、漁場者の「なぜマイワシの資源量が減ったのか？」等の理解に繋がることを期待して本稿の終わりとしたい。

多獲性浮魚類の再生産研究高度化に向けての生殖生理学的手法の適用

松山 倫也*

Application of Reproductive Physiology to the Advanced Study of Stock Productivity of Small Pelagic Fishes

Michiya MATSUYAMA*

Abstract Although research on small pelagic fish resources, such as sardine, jack mackerel, and chub mackerel, has been ongoing over the last century, the process of stock productivity is not sufficiently clear. To clarify the mechanism of biomass fluctuation for assessing and managing the stock of resource fishes, it is essential to understand the changes in biological factors or resource characteristics that accompany biomass fluctuations throughout the life cycle of the fish. Models of biomass fluctuation mechanisms, recruitment assessment, and acceptable biological catch (ABC) are affected by the accuracy of the different parameters used in these models. In other words, obtaining accurate information on the biological parameters of a resource species can provide effective criteria for resource management or rules for fishery effort management. Reproductive parameters are an essential element in the egg and larval production models used to estimate fish biomass, and are routinely obtained in wide-ranging surveys by research vessels independent of commercial fisheries. Unfortunately, the parameters obtained from a survey sample do not necessarily reflect the actual biological information for the target species due to the potential for bias in the survey techniques used.

Recent advances in the knowledge of reproductive physiology and techniques for seed production in finfish have made it possible to breed and raise small pelagic fish in captivity. Experiments conducted in the laboratory have the advantage of greater reproducibility, and the information obtained can generally be accepted within the given conditions. Combining survey data with experimental analyses should help to clarify the actual reproductive and spawning biology of wild stocks. In this review, I assess the validity of biological parameters obtained from captive experiments using chub mackerel as a model species, and discuss its application to other resource fish species.

Key words: small pelagic fish, resource management, biological parameter, reproductive physiology, captive stock, chub mackerel

はじめに

イワシ、アジ、サバ類などの多獲性小型浮魚類の資源変動機構の解明ならびに資源評価と管理は水産資源

学上の極めて大きな課題であり、そのためには、資源変動に伴う生活史全体を通じた生態あるいは資源生物学的特性の変化の把握が必要である。しかし、それら小型浮魚類に関する資源生物学的研究の歴史は100年に

2006年1月6日受理 (Accepted on January 6, 2006)

* 九州大学大学院農学研究院海洋生物学研究分野 〒812-8581 福岡県福岡市東区箱崎6-10-1 (Laboratory of Marine Biology, Faculty of Agriculture, Graduate School of Kyushu University, Hakozaki 6-10-1, Higashi-ku, Fukuoka, 812-8581, Japan)

も及ぶが、未だ天然での再生産過程については、必ずしも良く分かっていない。魚類資源における個体群変動メカニズム、加入量予測、あるいは許容漁獲量などにおける精度の高いモデルの確立は、そのモデルを構築する各種パラメーターの精度に依存する。すなわち、正確な生物情報に基づいて初めて有効な資源管理基準や漁獲制御ルールの作成が可能となる。繁殖に関する各種パラメーターも、卵稚仔調査から産卵親魚量を推定するモデルにおいては必須の情報で、一般に漁業から独立した調査船調査により得られている。しかし、野外調査より得られる情報は、調査法、採集法の制限からくるバイアスにより、対象種の正確な生物情報を必ずしも反映しているとは言い難い。

一方で、近年の種苗生産に関する理論と技術の発展により、小型浮魚類も飼育下で産卵させることができるようになってきた。飼育実験の有利さはその再現性の高さにあり、得られた情報は設定された実験条件内において一般則となりえる。すなわち、野外調査の解析結果と飼育実験結果との摺り合わせによる仮説と検証のフィードバックを通じて、天然群の繁殖生態の実態が少しずつ明らかになってきた。ここでは一例としてマサバを取り上げ、飼育実験より得られる情報の有効性を生殖生理学的観点から紹介するとともに、他魚種への応用に関する情報も提供したい。

1. 飼育環境下での生殖障害

魚類の配偶子形成は、他の脊椎動物と同様に、脳-脳下垂体-生殖腺系で産生される各種ホルモンにより調節されて進行する。脳で統合された種々の環境情報および生理的情報は、間脳視床下部で産生される生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) などの神経ホルモンを介して脳下垂体へと伝えられ、脳下垂体では脳からの神経情報を生殖腺刺激ホルモン (GtH) として液性情報に変換して生殖腺へと伝達する。生殖腺では GtH の作用により、卵濾胞細胞やライデッヒ細胞などの体細胞で各種性ステロイドホルモンが合成され、これらの性ステロイドホルモンが雌雄配偶子の成長、成熟を調節する。マサバの雄では飼育環境においても精巣は成熟し、運動能を持つ多量の精子を生産できるが、雌では卵黄形成は進行するものの卵の成熟が起らない。これは、飼育下の雄では、脳 (Brain) - 脳下垂体 (Pituitary) - 生殖腺 (Gonad) における内分泌軸 (BPG axis) の情報伝達が滞りなく進行するのに対し、雌では卵が成熟するために必要なステロイドホルモン (卵成熟誘起ホルモン, MIH) の合成を促す GtH のサージ (一過性の大量分泌) が起らないことに因る。し

たがって、雌では排卵とそれに続く産卵も起らない。

近年、魚類においても他の脊椎動物と同様、2 種類の GtH、即ち濾胞刺激ホルモン (FSH) および黄体形成ホルモン (LH) が存在することが明らかにされ、これまでに、サケ科魚類、コイ、マダイ、カツオ、メバチ、マミチヨグなどにおいてタンパク質レベルで 2 種類の GtH が単離されている。魚類における GtH の生理作用、特に FSH の機能についてはほとんど解明されていないのが現状であるが、サケ科魚やマダイでは、少なくとも卵の成熟促進に関与するのは LH であることがわかっている。また、マサバを含め、飼育下で卵黄形成は進行するものの成熟が起らない多くの魚種に対して、LH 様作用のあるヒト絨毛性生殖腺刺激ホルモン (HCG) の投与により成熟が誘導されることから、多くの魚種では卵の成熟には LH が関与していることが推定される。

魚類の卵形成過程において主な役割を果たす性ステロイドホルモンは、卵黄形成促進のためのエストラジオール- 17β (E2) と、卵成熟時に MIH として生成、作用するプロゲステロンである (松山と太田, 2000)。濾胞細胞で作られた E2 は肝臓に達し、肝細胞で卵黄の前駆タンパク質であるビテロゲニンの合成を促進する。ビテロゲニンは血流を通過して卵巣に達し、飲作用 (pinocytosis) により卵細胞内に取り込まれ卵黄タンパク質として蓄積される (松原, 2000)。

卵黄蓄積が終了したマサバ親魚に HCG を投与すると、各種ステロイド合成系代謝酵素活性の改変が起り、これまで E2 を合成していた濾胞細胞は MIH の合成を開始する。マサバの MIH はこれまで複数の魚種で同定された MIH と同じ $17,20\beta$ -ジヒドロキシ-4-プレグネン-3-オン ($17,20\beta$ -P) であった (Matsuyama *et al.*, 2005)。GtH は濾胞細胞における MIH の合成促進の他、卵細胞に作用して、卵細胞膜表面に MIH 受容体を形成させる作用をもつ。MIH 受容体は卵細胞膜上に局在するステロイドホルモン受容体で、MIH と結合することにより細胞内情報伝達系を介してその卵成熟誘起作用を発現する。

マサバ雌親魚に合成 GnRH (GnRH α) を投与すると成熟、産卵が起る (後述) ので、飼育環境下でも脳下垂体内には十分量の GtH が合成されていることがわかる。したがって、GtH の放出は主に GnRH により制御されているので、飼育環境下のマサバ雌においては、脳により統合される環境情報が産卵環境として不適切と判断されたため、GnRH-GtH 間の情報の流れが停止しているものと考えられる。我々の飼育実験では、魚体を取り扱い易い 1~3 トン水槽を用い、そこに 20~30 尾程度収容して自然日長・水温で飼育するが、このような条件では通常雌の成熟は起らない。しかし、

飼育環境に長期間馴致させ、大型水槽で飼育すると、マサバは水槽内でも自然産卵を行う。最近村田ら(2005)は、受精卵から育てた3歳マサバ親魚の雌雄各50尾を50トン水槽に収容し、自然水温、12L12Dの日長条件下で2ヵ月にわたる自然産卵を報告した。これは、供試魚が飼育環境に慣れておりストレスが少なかったことに加え、マサバの産卵環境としてある程度の遊泳できる広さが必要であることを示している。したがって、成熟を停止させている環境因子がわかり、そのような環境因子を排除した条件で飼育すれば、マサバに限らずマアジやマイワシでも(あるいは他の魚種でも)、飼育下で自然産卵を誘導することは十分期待できる。

2. 卵成熟、排卵のタイムコース

多くの魚類は産卵期をもち(生殖年周期)、産卵期の中で繰り返し産卵を行う多回産卵魚では排卵(産卵)周期をもつ。なお、排卵とは成熟した卵が濾胞細胞層から卵巣腔あるいは体腔に離脱する現象を示し、産卵とは排卵された卵が体外に受精のために産み出されることをいう。卵母細胞の卵黄形成から卵成熟、排卵に至り産卵が繰り返される排卵(産卵)周期は種独自のもので、卵成熟、排卵および産卵のタイムコースや時刻も魚種毎に異なっている。特に、卵成熟、排卵および産卵のタイムコースは、資源対象種の産卵生態を反映するような野外調査法を構築する上で重要な情報となる。

マサバをモデルとして、その成熟、排卵のタイムコースを明らかにする目的で、卵黄形成が終了している5

月上旬に、海面網生け簀で約半年間飼育された250尾の親魚(体重420~530g、尾叉長280~330mm)を用い、以下の実験を行った(Shiraishi *et al.*, 2005)。麻酔した親魚の体各部を測定したのち、内径2mmのポリエチレン製カニューラを総排泄腔から卵巣に挿入し、卵細胞を採取した(Fig. 1a)。この時期の雄は腹部を軽くマッサージすると精液を排出するため簡単に識別できる。採取した卵細胞は少量の生理食塩水およびSera液に入れた。Sera液によって細胞質は透明化され、核を外部から容易に観察できる(Fig. 2)。生理食塩水中の卵細胞のうち、大型卵20個の直径を測定するとともに、Sera液中の大型卵の核の有無を確認した。これは、卵の退行過程に入るとその形態的指標として核膜の消失が先行して起こるため、退行卵を持つ個体を識別するためである。このようにして、卵径600 μ m以上(それ以下であれば、卵黄形成が不十分)で、正常に発達している(卵の退行が始まっていない)卵をもつ雌親魚92尾が選別された。10尾を採集した後、残りの親魚の背筋部にHCG(500 IU/kg BW)を注射投与し(Fig. 1b)、投与後12, 18, 24, 30, 36, 42, および48時間目に9~13尾を取り上げた。この実験期間の水温は19~20 $^{\circ}$ Cであった。

HCG投与後12~24時間で卵細胞にMIH受容体が形成(MC)され、核の移動(GVM)は18~24時間で起こった(Fig. 3)。MIH受容体の形成は、核を取り囲むように配列する複数の大型油球の形成で判断でき、このような形態的特徴をもつ卵をマサバのMIHである17,20 β -Pとともに*in vitro*で培養すると、成熟し、吸



Fig. 1. Egg sampling by using a flexible catheter (a) and HCG injection to the dorsal muscle of the chub mackerel (b).

水、透明化が起こる (Matsuyama *et al.*, 2005)。核膜の消失 (卵核胞崩壊, GVBD) した個体は24時間目に出現し、30時間では全ての個体が吸水卵 (HY) を持っていた。36時間では全ての個体で排卵が起こっていた。同様の実験は、3年間にわたり数回行われたが、18~24時間で核移動、24時間でGVBD、30時間で吸水、36時間では排卵後、というタイムコースは同じで、きわめて再現性の高い実験系であることが確認された。このように、予め卵黄形成が不十分な個体あるいは退行卵を持つ個体を除外し、適切な親魚のみを用いることにより、全ての供試魚を同調させて成熟、排卵させることができる。

この実験では雌のみを収容しているので、排卵しても産卵は行われない。HCG投与後、排卵は30~36時間

の間に起こるので、36、42および48時間目に採集された個体は排卵後0~6、6~12および12~18時間に相当する。それらの個体から卵巣腔内に排卵された卵を搾出し、雄から採取した精液を用いて人工授精を行った。その結果、排卵直後 (0~6時間) の卵は高い受精率を示したが、排卵後の時間経過に伴い受精率は急激に減少し、排卵後12~18時間の卵では10.5%となった (Fig. 4)。これは、卵巣腔内での滞留時間の延長に伴い卵質が低下する「排卵後過熟」と呼ばれる現象で、トラフグ (中田ら, 1998) やブリ (中田ら, 2001) など養殖対象種でこれまでいくつか報告されている。排卵後過熟による卵質低下の細胞機構は現在のところ全く不明であるが、最近、ゼブラフィッシュをモデルとした実験から、第2減数分裂中期にある排卯卵の紡錘

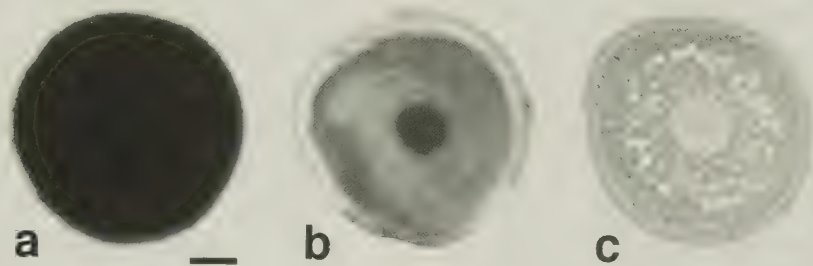


Fig. 2. Photomicrographs of fully-grown oocytes at late yolk stage of the chub mackerel. Figure a and b show the fresh oocyte preserved in Ringer's solution and fixed oocyte with clearing solution (Sera solution), respectively. Figure c shows the histological section. Scale bar=100 μ m.

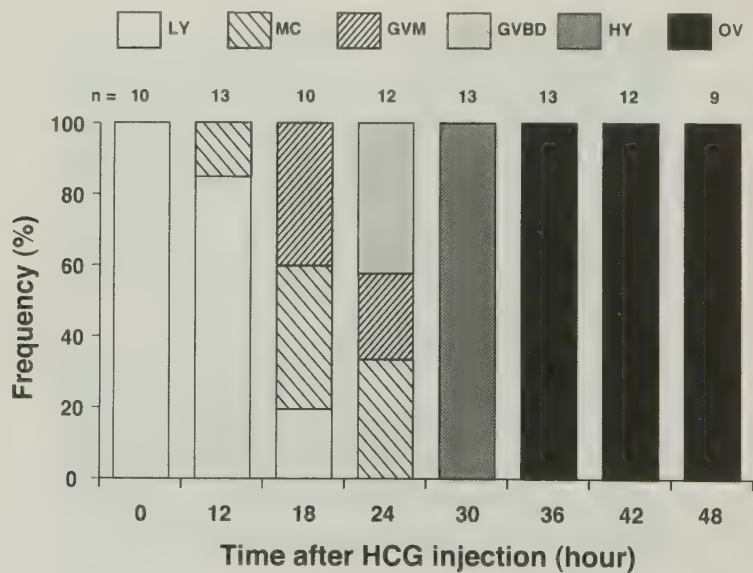


Fig. 3. Changes in developmental stages of the chub mackerel ovary after injection of human chorionic gonadotropin. Numbers over each column indicate sample size. LY, late yolk stage; MC, maturation competence stage; GVM, germinal vesicle migration stage; GVBD, germinal vesicle breakdown stage; HY, hydration stage; OV, ovulation stage.

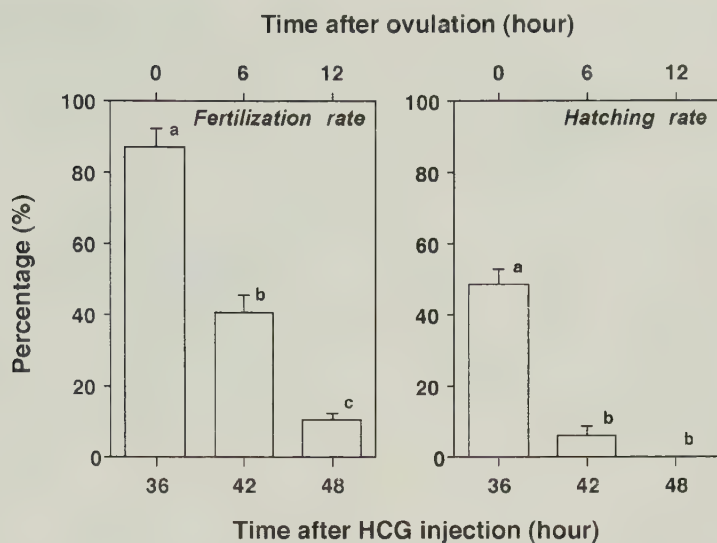


Fig. 4. Fertilization rates and hatching rates in the artificial insemination of ovulated eggs of chub mackerel at different times after ovulation. Different letters represent statistically different values ($P < 0.05$).

体を形成する紡錘糸の異常化による、受精後の減数分裂の進行阻害が一要因であることが指摘されている(古屋ら, 2005)。いずれにしても、マサバで確認された排卵後過熟現象は、"マサバの産卵は排卵に引き続いて直ちに行われる"ことを意味している。ちなみに、GVBDからさらに短い時間間隔を設定して採集を行ったその後の実験から、排卵はHCG投与後、33時間前後に集中して起こることが明らかとなった(白石ら, 2004)。

3. 産卵時刻

以上の実験より、GtHの刺激があってからマサバの卵は30時間までに成熟して吸水卵となり、36時間までに排卵が起こり、排卵に引き続き産卵が起こることが明らかとなった。飼育実験で明らかにされた情報に基づき天然群の産卵生態を推定する場合、HCGで誘導したマサバの成熟、排卵のタイムコースが天然群のものと同様であるか、ということが問題になる。我々は、親魚の麻酔その他の作業手順の都合から、通常14:00頃にHCGを投与しており、その場合、排卵は約33時間後の23:00頃に集中して起こる。一方、伊豆諸島近海産マサバの産卵群を経時的に採集した調査(Yamada *et al.*, 1998)では、マサバの産卵は22:00~24:00に集中して起こることが報告されている。"マサバの産卵は排卵に引き続いて直ちに行われる"ので、飼育実験の排卵時刻と天然群の産卵時刻(すなわち排卵時刻)とが偶然にも一致していたことになる。そこで、次にHCGの投与を12時間ずらして02:00に投与する実験を行った。そ

の結果、排卵は11:00を中心とした30~36時間前後に起こった。さらに、脳下垂体中にもつマサバ自身のGtHで卵成熟を起こさせるために、GnRHa (Des-Gly¹⁰-[D-Ala⁶]-LHRH ethylamide, 400 μ g/kg BW)を14:00と02:00に投与した。その結果、排卵はいずれもGnRHa投与後、約35時間後に起こった(白石ら, 2004)。以上の結果は、1) GtHの刺激が起こった場合、その時刻に関係なく卵成熟は進行し、排卵は約33時間後に起こる、2) HCGによる卵の成熟、排卵のタイムコースはマサバ本来のGtHによるものとほぼ同じである、ことを意味している。さらに、天然群での産卵は一定の時間帯に集中して行われるので、3) 天然群の雌では、卵成熟のためのGtHの放出は同じ時間帯に起こり、その後の成熟、排卵も同調して進行する、ことが推定される。以上の結論に基づき、天然群で想定される成熟、産卵のシナリオをFig. 5に示した。

すなわち、卵黄形成が終了した雌では正午前後に脳下垂体からGtHが放出され、それにより、翌日の夜間22:00~24:00に産卵が行われるが、その間、翌日の午前中を中心に核移動期、午後から日没にかけてGVBDと吸水が進行し、20:00頃から排卵が始まる。この推定シナリオがどの程度正しいかは、昼間における効率的採集法の検討も含めて今後の詳細な野外調査を待たねばならない。

4. 排卵後濾胞

現在、漁獲統計に基づくABC(生物学的漁獲許容量)

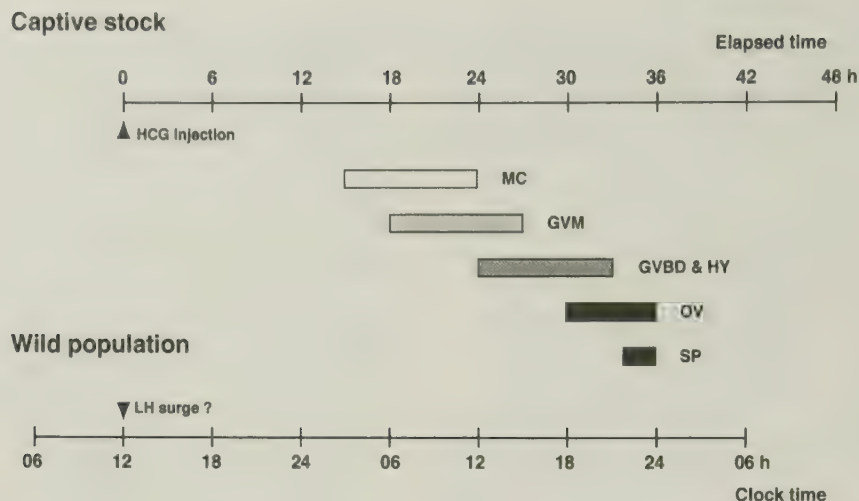


Fig. 5. Time course of the maturational process of chub mackerel oocytes after human chorionic gonadotropin (HCG) injection and the assumed scenario of maturational process in the wild population. MC, maturational competence; GVM, germinal vesicle migration; GVBD, germinal vesicle breakdown; HY, hydration; OV, ovulation; SP, spawning.

算出のための資源評価の主流はVPA（コホート解析）で、その際、年齢別漁獲尾数の情報が必要とされる。しかし、TAC（漁獲可能量）による資源・漁業管理が行われると、漁獲量は制限を受けるため資源量の指標となりにくくなり、漁獲情報の資源情報としての価値が低下する。したがって、今後は漁獲努力量によるチューニング手法の検討とともに、漁業と独立した、迅速かつ精度の高い資源量指標を提供できる直接推定法の役割がますます重要になると考えられる（大関, 2000）。

Lasker（1985）の主導により推進されたDEPM（Daily Egg Production Method, 一日当たり総産卵量による資源量推定法）は、産卵量からの資源量推定を可能にした手法である。そのSSB（産卵親魚量）を求める推定式で必要とされるパラメーターのうち、 S （産卵頻度）については魚種ごとに成熟段階の評価基準を作成する必要がある、パラメーター S の精度が推定値全体の精度に大きく影響する。一般に成熟段階は、卵巣の組織切片標本の観察による卵巣卵の発達ステージと排卵後濾胞の退行ステージにより判定される。したがって、卵巣卵の発達および排卵後濾胞の退行のタイムコースの詳細が明らかになればパラメーター S の精度は著しく向上し、結果としてSSBの推定値の精度向上に大きく貢献することになる。

我々のマサバの飼育実験系では、排卵からの時間が明確な排卵後濾胞を確実に採取できる。すなわち、選別した親魚にHCGを投与すると、全ての個体で33時間前後に集中して排卵が起こるので、排卵を確認後、一定時間間隔で採集していけばよい。卵が成熟し吸水が

起こると腹部が急激に大きく膨出するが、そのような個体を掬い上げ、腹部の軽いマッサージにより透明卵が体外に流出したときを排卵後0時間とする。このようにして、排卵後0, 6, 12, 18, 24, 48, 72時間の卵巣が得られ、水温19～20℃における排卵後の時間経過が明瞭な排卵後濾胞の組織切片標本が作製された（Fig. 6）。これまでに、マサバの排卵後濾胞の退行ステージに関しては北米西岸産マサバの報告（Dickerson *et al.*, 1992）があるが、排卵後濾胞の退行過程は水温の影響を受け変化することが示されており（Hettler and Fitzhugh, 1995）、同種でも産卵場の環境水温が異なるような場合は、系群ごとに排卵後濾胞の退行過程を調べることが望まれる。さらに、環境水温は排卵後濾胞の退行過程のみならず、卵黄形成、卵成熟、排卵までの時間、卵径、産卵量、産卵間隔、産卵回数などの各種繁殖パラメーターにも影響を及ぼすことも予想される。飼育系の有利さは、同じ養成履歴をもつ親魚を使うことにより、繁殖に係わるポテンシャルを揃え、ばらつきを最小限に抑えることができること、環境調節により種々の日長や水温条件での実験を同時期に、あるいは繰り返してできることにある。今後はマサバの産卵水温の範囲にある15～25℃で種々の成熟、産卵誘導を行い、上記各種繁殖パラメーターを明らかにしていく実験が展開されることが期待される。

産卵頻度 S の推定は排卵後濾胞の形態的特徴に基づき行われているが、これは、産卵履歴、すなわち、対象とする個体は何日前に産卵したのかを知る為の現在唯一の方法である。我々の実験系では、排卵からの時

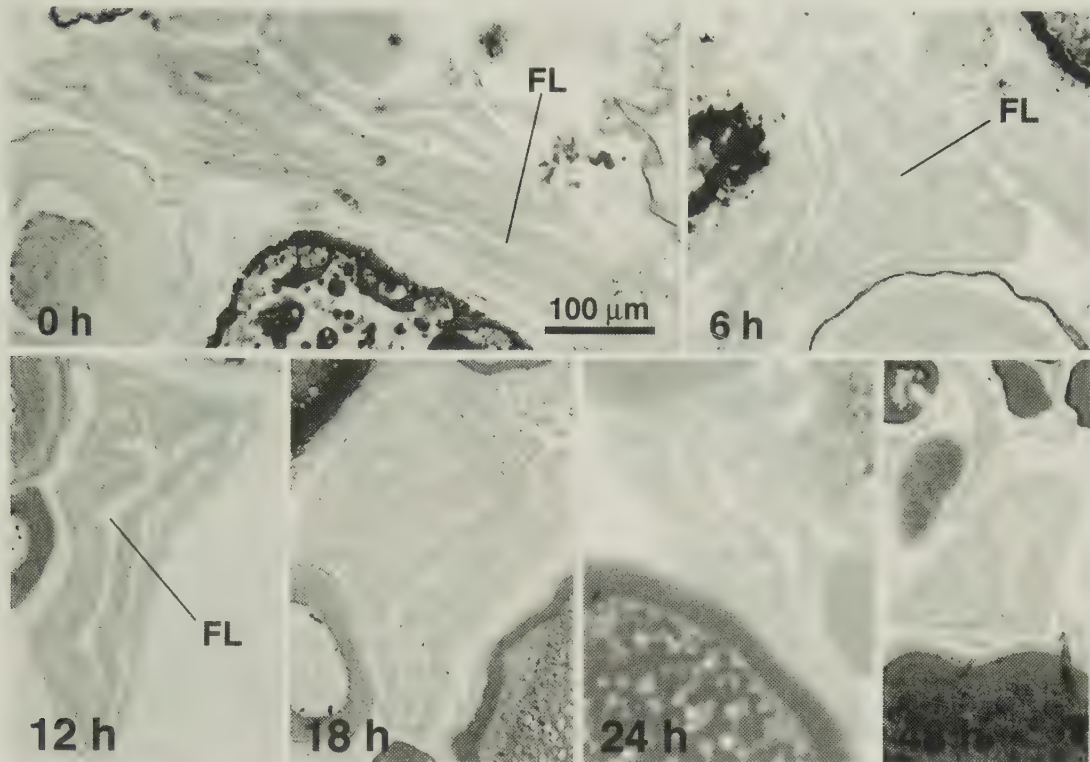


Fig. 6. Photomicrographs of postovulatory follicles of the chub mackerel collected at 0, 6, 12, 18, 24 and 48 hours after ovulation. FL, follicular lumen.

間が明確な卵巢組織を極めて生鮮な状態で大量に入手できるため、組織学用の標本は勿論のこと、各種 mRNA やタンパク質の採取、調整も可能となる。また、産卵未経験の養成親魚を用いるために、得られる排卵後濾胞は全て 1 回目の排卵後のもので、産卵盛期の天然魚のように退行過程の異なる排卵後濾胞が混在してみられることもない。マサバの排卵後濾胞は、排卵後 1 日以内であれば卵巢組織を生理食塩水のなかで軽く攪拌するだけで遊離し、肉眼で容易に判別できるので、均質な排卵後濾胞のみの大量採取が可能である。現在、我々はこのように採取、調整した排卵後濾胞を用い、排卵後の経過時間に伴って発現する各種タンパク質のプロテオーム解析を行っている。時間特異的なタンパク質が特定できれば、排卵後濾胞の機能解析のみならず、その抗体等を用いて、組織切片標本観察に替わる、より簡便で汎用性のある産卵履歴推定法が開発されることが期待される。

5. 天然群の産卵頻度と産卵間隔

飼育実験で明らかにされた卵巢卵の成熟タイムコースと排卵後濾胞の退行過程に基づき、マサバの産卵頻度 S を推定するための卵巢成熟度の評価基準を作成した。 S の推定に用いたのは、五島近海で 2001 年の産卵

期（3 月下旬～5 月中旬）に計 5 回、深夜から明け方（0:00～6:00）にかけて旋網によって漁獲されたマサバ雌親魚 137 尾である。

マサバは 22:00～24:00 に集中して産卵し、産卵は排卵に引き続いて起こるため（前述）、産卵直後の 0:00～6:00 に漁獲された場合、その個体は排卵後 0～6 時間の排卵後濾胞（0 day POF）を持つことになる。すなわち、0 day POF の形態的特徴を示す排卵後濾胞を持つ個体は、採集日の前日深夜に産卵したと考えられる。同様に、翌日の 0:00～6:00 に漁獲された個体は排卵後 24～30 時間の排卵後濾胞（1 day POF）を、翌々日の 0:00～6:00 に漁獲された場合は排卵後 48～54 時間の排卵後濾胞（2 days POF）を持つことになり、それぞれ、2 日前産卵および 3 日前産卵の個体であることを示している。また、卵成熟のタイムコースより、0:00～6:00 の漁獲時間帯に核移動期（GVM）の卵母細胞を持っていた個体は、当日の深夜に産卵する予定であったと推定される。

2001 年度の対馬暖流系群マサバ産卵群の採集日別産卵頻度を Fig. 7 に示す。3 月 26 日と 5 月 14 日には産卵が 4 日間毎日行われており、ほぼ全個体が 4 日間のいずれかの産卵に関与していた。一方、4 月 5 日では当日産卵予定の個体のみが少数出現しており、過去 3 日間における産卵活動が不活発であることを示していた。

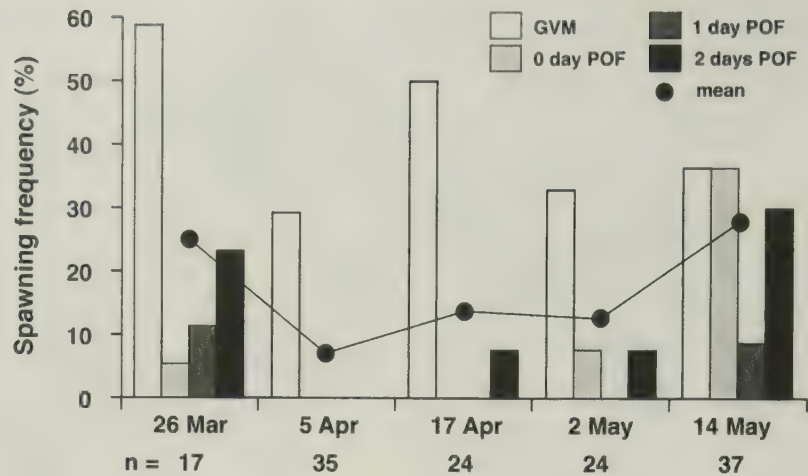


Fig. 7. Spawning frequencies of chub mackerel females in the spawning stock of the Tushima current subpopulation in 2001, which were estimated from percentages of females in the four spawning states. The spawning states of females were classified into the followings. GVM: <24 h prior to spawning; 0 day POF: <24 h after spawning; 1 day POF: 24-48 h after spawning; 2 days POF: >48 h after spawning. GVM, germinal vesicle migration oocytes; POF, postovulatory follicles.

4月17日と5月2日の産卵群では両者の中間の産卵状況を示した。産卵期における5回の採集を通じての平均産卵頻度は16.4%で、また、その逆数から求められる平均産卵間隔は6.1日となった（白石ら, 2003）。
産卵期の個体の卵巣組織は、卵巣卵の発達ステージと排卵後濾胞の組み合わせにより、Table 1に示す9

つのパターンが観察された。137尾中58尾で産卵間隔が推定でき、それらのうち、産卵間隔4日以上が38尾、3日が14尾、2日が6尾で、毎日産卵を示す個体はいなかった。このように、2001年における対馬暖流系群マサバ産卵群では、産卵間隔が推定できる個体のうち4日以上の産卵間隔を示すものが過半数を占めるとも

Table 1. Numbers of chub mackerel females with combinations of the different states in the ovary

Spawing state present in ovary	Day interval between spawnings	Number of females
GVM	≥4	38
GVM+POF ₂	3	14
GVM+POF ₁	2	3
LY+POF ₀ +POF ₂	2	3
LY	unknown	30
LY+POF ₀	unknown	12
LY+POF ₁	unknown	2
LY+POF ₂	unknown	1
Oocytes prior to LY	unknown	34

GVM: <24 h prior to spawning
POF₀, 0 day POF: <24 h after spawning
POF₁, 1 day POF: 24-48 h after spawning
POF₂, 2 day POF: >48 h after spawning
Samples were collected from Tsushima current subpopulation in 2001.
GVM, cocytes at germinal vesicle migration stage; LY, oocytes at late yolk stage; POF, postovulatory follicles.

に、最短2日で産卵を行うことが明らかとなった。

このように、1) 漁獲の時刻、2) 排卵後濾胞の退行過程、および 3) 卵成熟のタイムコースが明らかにされている場合、産卵に関与した個体の産卵日、個体の産卵間隔および個体群の平均産卵間隔あるいは産卵頻度を高い精度で推定することができる。以上の結果は一例に過ぎないが、特定の産卵群の追跡調査は無理であるとしても、特定の産卵海域において、採集回数や尾数を増やすとともに、漁海況との関係においての長期的モニターを行うことにより、マサバの産卵動態の詳細を明らかにできよう。

6. 飼育魚の産卵誘発

マサバの雌雄親魚にGnRHaを投与すると、翌日から産卵が継続して行われる。我々は、卵黄形成が終了したマサバ2歳魚を選別し、雌雄ともにGnRHa (400 μ g/kg BW) を投与し、雌雄それぞれ10尾、計20尾を3トン水槽に収容したものを2基準備した。餌には冷凍オキアミとブリ用配合飼料を飽食するまで毎日与えた。GnRHa投与の翌日からすべての水槽で毎日産卵がみられ、産卵時刻は天然群と同様の22:00~24:00に集中しており、受精率、孵化率も良好であった。産卵は10日間継続して終了し、1回目の産卵量はそれぞれ22.8万粒および31.1万粒で、2回目以降はいずれの水槽でも5万粒以下であった。すなわちGnRHaの刺激により初回の産卵ではほとんどの雌親魚が産卵に参加するが、2回目以降の産卵では群としては毎日産卵が行われものの、産卵に関与した雌親魚は毎回1~数尾程度であったことが示唆された(白石ら, 2005)。この実験は産卵期のほぼ終わりに相当する6月下旬に行われたが、産卵期初期に設定すればより長い産卵の継続が期待されるかもしれない。近年、マイクロサテライト(MS)マーカーを用いた親子判定がいくつかの魚種で試みられているが(Jones and Avise, 1997; Neff, 2001)、マサバの親子判定用MSマーカーを開発し、この実験系で用いることによって、各個体の産卵回数、産卵頻度が正確に推定できるようになる。先述した野外調査とこのような飼育実験との組み合わせにより、マサバの産卵生態、産卵動態、繁殖特性などの全貌が解明されることが期待される。

7. バッチ産卵数

バッチ産卵数(batch fecundity, F)とは1産卵期に複数回産卵する多回産卵魚の雌1尾が、1回の産卵で産み出す卵数のことで、通常、卵巣内の吸水卵を計

数することにより F を推定している(Hunter *et al.*, 1985)。しかし、多くの魚種は種特有の成熟・産卵リズムを持ち、吸水する時刻も決まっているので、漁法によっては吸水卵を持つ個体がほとんど得られない魚種もある。例えば、北部九州近海における旋網によるマサバ漁は深夜から明け方にかけて行われるが、漁獲物の中に吸水卵を持つ個体はほとんどみられない。これは、既に述べたようにマサバの卵成熟と吸水は日中~夜半にかけて進行することに因るものと考えられる。したがって、このような吸水卵を持つ個体が採集され難い種では F の算定は難しい。

HCG投与の実験からも明らかのように、卵黄形成卵は一旦成熟へのシグナルを受け取ると、核が移動を開始し、そのままGVBDを経て吸水卵となるので、核移動期の卵は F 算定のために使うことができると考えられる。したがって、通常の調査船調査で使用する10%ホルマリン等で固定された卵巣から核移動期の卵を識別できれば、 F 算定に使用できる対象個体の幅が大きく広がる。実際、長崎、福岡、下関などに水揚げされるマサバで、卵巣内に核移動期の卵をもつ個体は多く漁獲されている。しかし、固定された卵巣から核移動期の卵を選別することはそれほど容易ではない。Fig. 8にマサバの成熟、排卵に伴う卵径頻度分布を示す。卵黄形成が終了した卵巣では卵径600 μ m付近にモードを持つ卵群が形成されているが、これらの卵が核移動の後期になっても、卵径頻度分布上は卵黄形成卵と分離せず、卵径から明確に両者を区別することはできない。また、実体顕微鏡下で観察した場合、核移動後期の卵では中央に融合した油球が確認されるが、固定してから時間が経過した標本では油球を判別できないことが指摘されている(渡邊と斉藤, 2000)。このように、マサバではホルマリン固定された核移動期の卵はそのままでは F 算定には使用し難い。しかし、マサバに限らず、我が国の水研、水試、大学等における過去の多くの資源対象種の調査研究では、特別の目的をもった研究を除いて卵巣標本は多くの場合が10%ホルマリンで固定、保存されているものと考えられ、諸外国でも事情は同様であろう。吸水卵を持つ個体が漁獲され難い種では、ホルマリン固定後の核移動期卵の簡易識別法が開発されれば、今後の調査研究に大きく貢献するのみならず、これまで長期間保存されてきた卵巣標本も新たに対象となるので、例えば、資源種のバッチ産卵数の長期的変動解析においても、対象標本数が増加することにより、より高い精度で傾向を把握できるようになる。現在我々は、安息香酸ベンジル(発生学等で卵黄の多い両生類の卵を透明化する目的で使われる)を主体とした透徹剤と各種染色液を組み合わせた

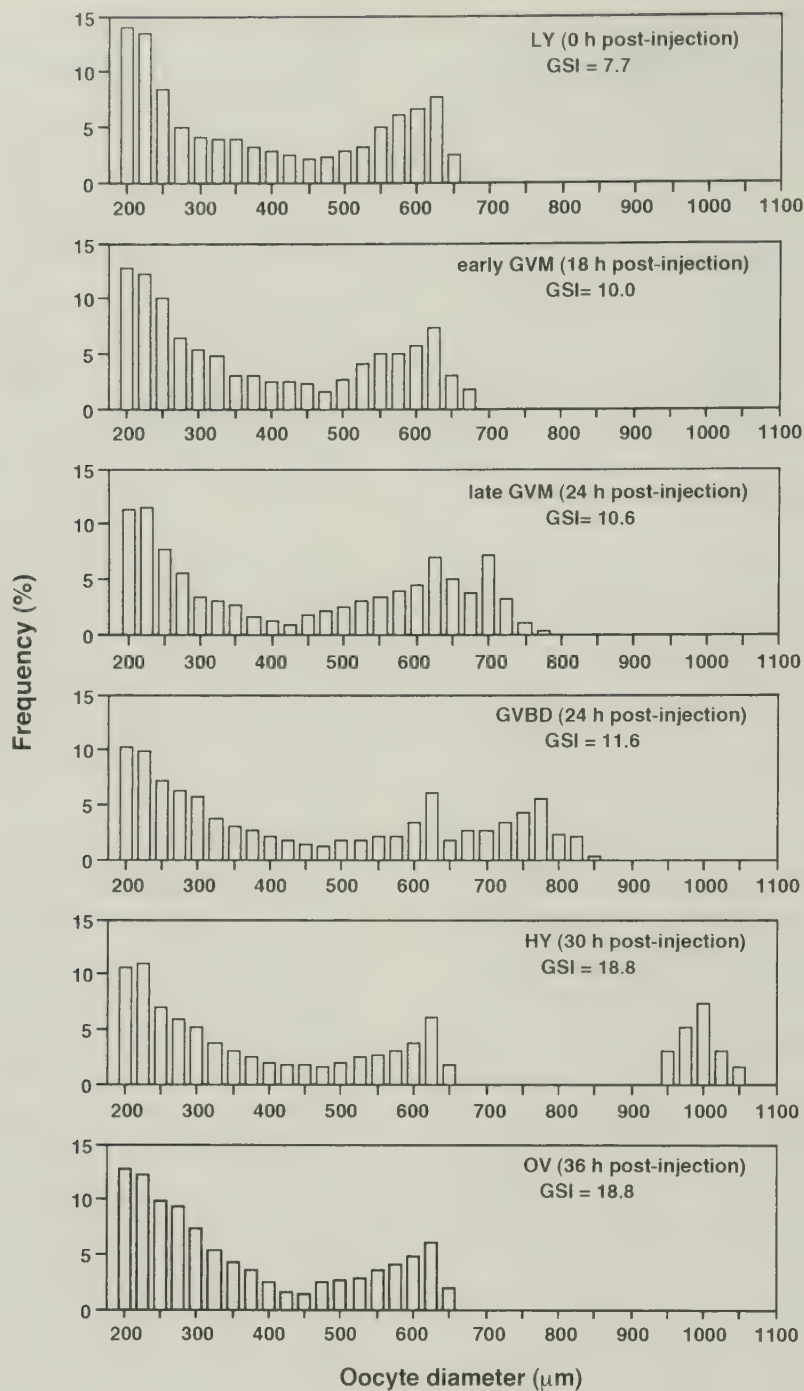


Fig. 8. Size-frequency distribution of oocytes ($>250 \mu\text{m}$ diameter) in chub mackerel ovaries at different stages of maturation induced by HCG injection. Each panel presents data for one female. See Fig. 3 for developmental stage of ovary. GSI (gonadosomatic index) = $100\text{GW}/(\text{BW}-\text{GW})$, where GW, gonad weight; BW, body weight.

ホルマリン固定卵用の簡易核判別法を開発中である。
マニュアル化した後、公表したい。

8. 飼育実験系の今後の展開

マイワシ (松山ら, 1991) やマアジ (Yoda *et al.*, 2001) も基本的な取り扱い方を習得すれば、当初考え

ていたほど飼育は難しくなく、また、カタクチイワシは飼育条件下でも活発に自然産卵を行う (Tsuruta, 1992)。一方、主要浮魚資源の中では、サンマは神経質で取り扱いが難しく、マサバで用いた成熟、産卵促進技法は適用できないが、昇温処理により自然産卵することが明らかにされている (津崎, 2001)。したがって、魚種毎にその産卵生態の特徴を活かした成熟・産卵実

験系の研究モデルの構築が必要で、それにより、野外調査のみからでは得ることのできなかった各魚種の繁殖に関する多くの生物情報を得ることができるようになる。

多獲性浮魚類の飼育実験系の展開のなかで今後期待されるのは、初期の減耗過程の定量的解析であると考えられる。仔魚の生き残りの良否が資源の水準を左右する、というHjørt (1914)の仮説以来、その仮説の検証と、初期生活史における死亡要因解明のために、現在に至るまで多くの研究者が初期減耗の問題に取り組んできた。現在では、仔稚魚から加入時までの成長速度がその間の累積生残率（あるいは累積減耗率）を通して年級群豊度を規定する (Houde, 1987), という考え方が多くの研究結果を通して支持されており、現在の加入量変動機構を解明するための初期生活史研究では、仔稚魚期の成長が生残過程を規定する仕組みに焦点が当てられ展開している。このような研究においても、人工種苗の大量供給により初めて可能となる、飢餓や被食を通して起こる初期の減耗（あるいは生残）過程の定量的解析は大きく貢献することが期待される。小型浮魚類の仔稚魚の飼育はそれほど難しくないが、初期減耗研究の定量解析においては、均質の実験動物の安定した供給が要求されるため、今後は餌料系列を含んだ飼育条件の整備が必要とされる。一方、仔稚魚の潜在的な生残能力に及ぼす卵質の影響、卵質に及ぼす親魚の影響、さらに親魚の成熟や産卵に及ぼす生物的・非生物的环境条件の影響など、卵質に関わる親魚の影響、すなわち "maternal effect" にも多くの関心が向けられてきている (森本, 1994)。このような要因も、安定した親魚および仔稚魚の飼育技術が確立することにより検討可能となる。

わが国の魚類生殖生理の基礎理論や養殖、栽培漁業に関する技術は世界においても最高水準にある。また、野外調査あるいは数値モデル分野においても最高水準の資源研究が展開されているものとする。今後は、野外調査、飼育実験および数値モデルを総合した大型プロジェクトの組織化が必要であり、それにより、わが国でこれまで欠けていたとされる加入量変動機構における独自の仮説の構築やその検証研究の展開が期待される。日本が資源研究においてブレイクスルーとなる情報を世界に向けて発信できることを確信したい。

謝 辞

本稿は、2004年12月に川崎市で開催されたワークショップ「水産重要種の生殖機構と水温による影響」における講演内容を整理したものである。ワークショップを

企画、運営し、本稿を書く機会を与えて頂いた清水昭男博士、山下倫明博士をはじめとする（独）水産総合研究センター中央水産研究所の方々に厚くお礼申し上げる。

要 旨

多獲性小型浮魚類を対象とした資源評価のなかで、卵稚仔調査から産卵親魚量を推定するモデルにおいては繁殖に関する各種パラメーターは必須の情報で、一般に漁業から独立した調査船調査により得られている。しかし、野外調査により得られた情報は、調査法等のバイアスにより対象種の生物情報を正確に反映しているとは言い難い。一方で、近年、小型浮魚類を飼育下で産卵させることにより、種々の繁殖に関する情報が得られるようになってきた。本稿では一例としてマサバを取り上げ、管理対象種の再生産研究における生殖生理学の有効性とその活用の観点から、再現性のある飼育実験系の確立、野外調査と飼育実験の問題点ならびに利点、野外調査と飼育実験の適切な組み合わせによって初めて得られる繁殖情報について解説するとともに、他魚種への応用の可能性についても言及した。

キーワード：多獲性浮魚類、繁殖パラメーター、生殖生理学、飼育実験、野外調査、マサバ

文 献

- 中田 久, 松山倫也, 原 洋一, 矢田武義, 松浦修平, 1998: トラフグの人工授精における排卵後経過時間と受精率との関係. 日水誌, **64**, 993-998.
- 中田 久, 中尾貴尋, 荒川敏久, 松山倫也, 2001: ブリの人工授精における排卵後経過時間と受精率との関係. 日水誌, **67**, 874-880.
- Dickerson T. L., Macewicz B. J., and Hunter J. R., 1992: Spawning frequency and batch fecundity of chub mackerel, *Scomber japonicus*, during 1985. *Cal. Coop. Ocean. Fish. Invest. Rep.*, **33**, 130-140.
- 古屋広和, Vu Van In, 山口明彦, 松山倫也, 2005: ゼブラフィッシュをモデルとした排卵後過熟現象の細胞学的解析. 平成17年度日本水産学会大会講演要旨集, 1334.
- Hettler W. F. and Fitzhugh G. R., 1995: Temperature influence on postovulatory follicle degeneration in Atlantic menhaden, *Brevoortia tyrannus*. *Fish. Bull.*, **93**, 568-572.

- Hjørt J., 1914: Fluctuations in the great fisheries of northern Europe viewed in the light of biological research. *Rapp. P.-v. Reun. Cons. int. Explor. Mer.*, **20**, 1-13.
- Houde E. D., 1987: Fish early life dynamics and recruitment variability. *Am. Fish Soc. Symp.*, **3**, 17-29.
- Hunter J. R., Lo N. C. H., and Leong R. J. H., 1985: Batch fecundity in multiple spawning fishes. in "An Egg Production Method for Estimating Spawning Biomass of Pelagic Fish: Application to the Northern Anchovy, *Engraulis mordax*." (ed R. Lasker), *NOAA Tech. Rep. NMFS*, **36**, 67-78.
- Jones A. G. and Avise J. C., 1997: Polygynandry in the dusky pipefish *Syngnathus floridae* revealed by microsatellite DNA markers. *Evolution*, **51**, 1611-1622.
- Lasker R., 1985: Introduction: an egg production method for anchovy biomass assessment. In : An Egg Production Method for Estimating Spawning Biomass of Pelagic Fish: Application to the Northern Anchovy, *Engraulis mordax*. (ed R. Lasker), *NOAA Tech. Rep. NMFS*, **36**, 1-3.
- 松原孝博, 2000: 卵黄形成機構と卵黄の機能。「魚類の配偶子形成機構」. 月刊海洋, **32**, 107-112.
- 松山倫也, 石田泰蔵, 池浦 繁, 松井誠一, 田辺智唯, 北島 力, 松浦修平, 1991: LHRH-aによるマイワシの成熟, 排卵促進. 水産海洋研究, **55**, 301-306.
- 松山倫也, 太田耕平, 2000: 性ステロイドホルモン。「魚類の配偶子形成機構」. 月刊海洋, **32**, 81-89.
- Matsuyama M., Shiraishi T., Sundaray J. K., Rahman Md. A., Ohta K., and Yamaguchi A., 2005: Steroidogenesis in ovarian follicles of chub mackerel, *Scomber japonicus*. *Zool. Sci.*, **22**, 101-110.
- 森本晴之, 1994: 卵質。「魚類の初期減耗研究」(田中克, 渡邊良朗編), 水産学シリーズ98, 恒星社厚生閣, 東京, pp.83-96.
- 村田 修, 山本眞司, 石橋 亮, 岡 佑介, 米島久司, 家戸敬太郎, 宮下 盛, 熊井英水, 2005: マサバ養成親魚の自然産卵と卵発生および仔稚魚飼育. 水産増殖, **53**, 319-324.
- Neff B. D., 2001: Genetic paternity analysis and breeding success in bluegill sunfish (*Lepomis macrochirus*). *J. Heredity*, **92**, 111-119.
- 大関芳冲, 2000: 卵稚仔調査法。「TAC管理下における直接推定法-その意義と課題」(浅野謙治編), 水産学シリーズ124, 恒星社厚生閣, 東京, pp. 70-80.
- 白石哲朗, 加藤慶樹, 松山倫也, 2003: 対馬暖流系群マサバの産卵群における産卵頻度の推定. 平成14年度国際資源調査等推進対策事業日本近海シェアドストック管理調査委託事業報告書. 水産総合研究センター. 8-15.
- 白石哲朗, 吉野 泰, 北野 載, 古屋広和, 岡本久美子, 尾上静正, 山口明彦, 松山倫也, 2004: マサバのホルモン投与による成熟誘導と排卵後過熟現象より推定される天然群における成熟過程. 平成16年度水産海洋学会講演要旨集, 54.
- 白石哲朗, 入路光雄, 吉野泰, 北野載, 山口明彦, 岡本久美子, 尾上静正, 松山倫也, 2005: マサバの成熟, 産卵誘導系の確立と展開. 平成17年度水産海洋学会講演要旨集, 東広島. 114.
- Shiraishi K., Ohta K., Yamaguchi A., Yoda M., Chuda, H, and Matsuyama M., 2005: Reproductive parameters of the chub mackerel *Scomber japonicus* estimated from human chorionic gonadotropin-induced final oocyte maturation and ovulation in captivity. *Fish. Sci.* **71**, 531-542.
- Tsuruta Y., 1992: Reproduction in the Japanese anchovy (*Engraulis japonica*) as related to population fluctuation. *Bull. Nat. Res. Inst. Fish. Engine.* **13**, 129-168.
- 津崎 淳, 2001: サンマの飼育と展示. アクアマリンふくしま. 生き物情報.
http://www.marine.fks.ed.jp/scie_02.html
- 渡邊千夏子, 斉藤真美, 2000: バッチ産卵数の推定法の検討. 一日当たり総産卵量に基づくマサバ太平洋系群の資源量推定法に関する調査報告書. 中央水産研究所. 30-34.
- Yamada T., Aoki I., and Mitani I., 1998: Spawning time, spawning frequency and fecundity of Japanese chub mackerel, *Scomber japonicus* in the waters around the Izu islands, Japan. *Fish. Res.*, **38**, 83-89.
- Yoda M., Mizuta K., and Matsuyama M., 2001: Final oocyte maturation and ovulation of the jack mackerel, *Trachurus japonicus*, induced by HCG. Abstract of the 10th Annual Meeting of the North Pacific Marine Science Organization, Victoria, 185.

生殖生理に関する研究手法と水産重要魚種の再生産研究高度化への応用

清水 昭男*

Application of Physiological and Biochemical Methods to the Advanced Study of Reproductive Biology in Resource Fishes

Akio SHIMIZU*

Abstract Physiological and biochemical application to biology of resource fishes is an important matter for improving estimation and management of the resources. The female reproductive system is based on the integration of three systems; germ cell generating system (the ovary), the reproductive endocrine system, and the vitellogenic system. Specific chemical staining such as periodic acid-Schiff (PAS) reaction and immunochemical procedure such as immunostaining are convenient methods for detecting molecular markers of these systems. In the ayu, PAS staining evidently improved identification and detection of time-course changes of post-ovulatory follicles. In acanthopterygian fishes, universal antisera for immunocytochemical identification of FSH cells and LH cells have recently been obtained, and being successfully used for evaluating the activities of two different gonadotrophs in resource fishes such as mackerel, saury, and flounder. In the saury, antisera against vitellogenin can also be used for immunocytochemical evaluation of vitellogenenic activity. Further integrative studies on the three systems will be important for improving evaluation of biological properties of resource fishes.

Key words: reproductive physiology, endocrinology, ovary, post-ovulatory follicle, gonadotropin, vitellogenin, immunocytochemistry, reproductive parameter

1. はじめに

魚類の生殖活性評価に関する生理学的、分子生物学的パラメータは原理的には様々なものが考えられ、実験魚類等では実際に多くの分子指標が使われているが、水産重要魚種に現時点で利用可能なものは多くない。近年のバイオテクノロジー等の著しい発達によって潜在的な可能性は極めて大きなものがあるが、水産重要魚種への適用に関しては、生体分子の種間差の問題等から応用面が著しく遅れていた。しかしながら、ユニバーサル抗体（ある物質に対する抗原抗体反応を、広い範囲の生物群由来のものに対して起こすことのでき

る抗体）の開発等によってこの問題も解決が見えつつある。本総説では、生理生化学的指標を用いた水産重要魚種の再生産研究高度化の具体例を、将来的な可能性を含めて述べる。

2. 真骨魚類雌における生殖現象とその内分泌支配

生理生化学的手法を水産重要魚種の再生産研究高度化に効率よく応用するためには、生殖現象の内分泌支配を十分理解することが必要である。雌魚の成熟過程とその内分泌的調節機構に関しては詳しい総説があり（会田, 1989; 会田ら, 1991; 長濱, 1991; 高野, 1989）,

本特集号（松山，2006）の記述にもあるのでここでは簡単に述べる（図1）。魚類の成熟関連の最上位中枢は間脳の視床下部（特に視索前野）にある。成熟開始時期になると、その特定のニューロンから生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン（GnRH，10アミノ酸よりなるペプチドホルモン）の分泌が促進されると考えられている（奥澤，1991；天野，2006）。このニューロンの軸索は脳下垂体中に伸びており，脳下垂体の生殖腺刺激ホルモン分泌細胞を刺激して2種類の生殖腺刺激ホルモン（GtH）を分泌させる。GtHには濾胞刺激ホルモン（FSH）及び黄体形成ホルモン（LH）の2種類があり，どちらも分子量約3万の糖タンパク性ホルモンである。逆にGtHの分泌を抑制する視床下部因子も知られている（ドーバミン，GnIH等）。

生殖腺刺激ホルモンは血液中に放出されて卵巢に達し，卵巢の濾胞細胞中に存在するステロイド産生細胞を刺激する。この刺激によって，卵巢ではエストロジェン（エストラジオール 17β ）が分泌される。エストロジェンは肝臓を刺激してビテロジェニン（分子量数十万のホスホリボ糖タンパク）を活発に合成させる。血中に出されたビテロジェニンは卵巢の濾胞細胞と卵膜を通して卵母細胞中に取り込まれ，リポビチリンとフォスビチン， β' コンポーネントの3種類のタンパク質に開裂し，卵黄物質となる。

最終成熟期の近辺においてはエストロジェンの産生は弱まり，黄体ホルモン系ステロイド（ 17α ， 20β ジ

ヒドロキシ-4-プレグネン-3-オン， 17α ， 20β ， 21 トリヒドロキシ-4-プレグネン-3-オン等）が産生され，雌においては卵母細胞の最終成熟を促進する。最終成熟が完了した卵は成熟卵または完熟卵と呼ばれる。

卵母細胞の最終成熟時に起こる現象は魚種によってかなりの差異があり，統一的な説明は困難である。最終成熟の根元的な定義は「媒精した場合に正常に受精して発生が可能になること」であるが（長浜，1991），これは実際には確認が難しい。共通するのは，第1減数分裂の前期にあった核（大型なので特に胚胞とよぶ）が中期に移行することによって核膜が消失する現象であり，胚胞崩壊（GVBD，Germinal Vesicle Break-down）と呼ばれる。しかし，GVBDが完了してもさらに形態的变化が続く場合も多い。従って，「GVBDが完了して一連の外観上の変化が一時的に停止したもの」が実際の定義となろう。ただし，完熟した卵も排卵あるいは産卵されずに時間が経過すると，油球分布の異常等特有の形態変化を伴う過熟と呼ばれる現象が起こり，正常発生能が低下または消失する（足立，2000）。卵成熟の段階で多くの魚では主として卵黄タンパクの部分分解によって，卵黄球の融合，透明化，吸水による卵径の著しい増大が起こる。このため，成熟卵のことを透明卵，吸水卵と呼ぶことも多い。しかしながら，魚種によってはこの過程がほとんど起こらない場合もあり，成熟卵すなわち透明卵及び吸水卵とするのは正確ではない。また，以上の定義からも，透明

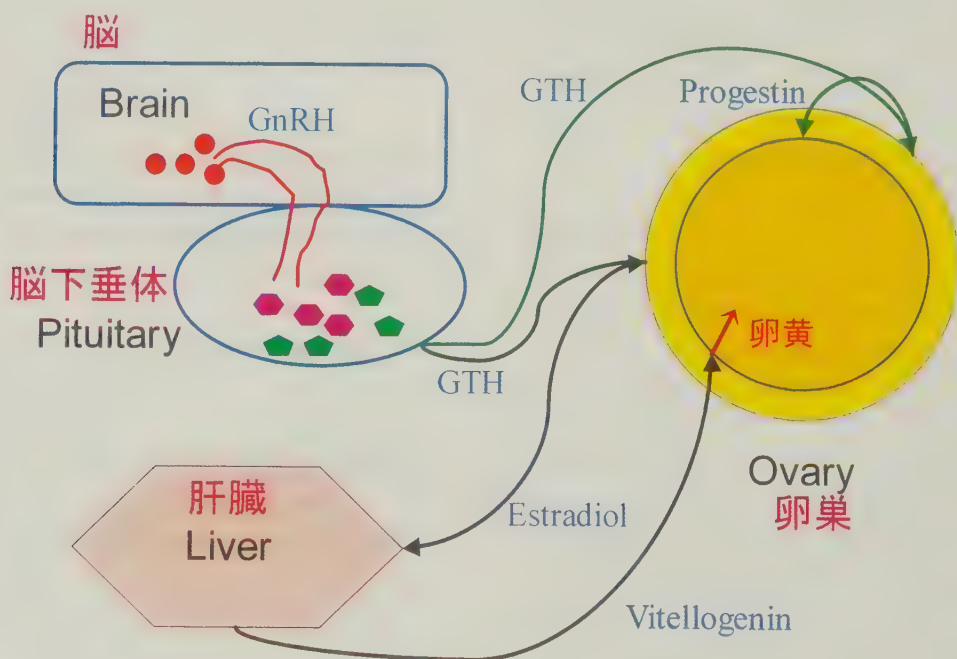


図1：真骨魚類の雌成魚における生殖現象の内分泌的制御機構。

卵や吸水卵は肉眼観察の結果に用い、成熟卵あるいは完熟卵は、顕微鏡観察等により胚胞崩壊等の細胞学的変化を確認した場合について用いるべきであろう。もちろん、同一魚種で肉眼観察と組織学的観察を併用、比較することによって、透明化あるいは吸水した卵が成熟卵であることが明らかになっている場合はこれらの用語を広く用いて良いと考えられる。

卵母細胞の最終成熟後、排卵（濾胞壁が破れて卵母細胞が卵巣腔または体腔内に排出されること）が起こる。排卵には生殖腺刺激ホルモン及びプロスタグランジンが働いている。残された濾胞組織は排卵後濾胞（Post-Ovulatory Follicle；POF）となり、徐々にまたは急速に（魚種や水温条件によって異なる）退縮する（栗田，2006；松山，2006）。

3. 生殖現象の生理・生化学的評価に有用な分子指標

上記のように、成熟は生殖腺と関連器官との密接な連携のもとに進行する現象であるため、生殖活性評価のための分子指標についてもこのことを考慮すべきである。

雌魚における生殖現象の生理学的評価に有用な分子指標の起源としては、卵巣そのもの、卵黄タンパク（ビテロジェニン）合成－蓄積系、生殖内分泌中枢（脳及び脳下垂体）の3つが挙げられる。これらの3系統はそれぞれ密接に関連して働いており総合的に考えることが重要であるが、最初の段階としてはそれぞれの系に特有な分子指標の探求が必要である。卵巣においては、排卵後濾胞の高感度高精度検出、プロモデオキシウリジン標識（DNAラベリング）による生殖細胞分裂活性の評価、生殖細胞や濾胞細胞のアポトーシス検出等が候補として挙げられる。その他の系においても、生殖腺刺激ホルモン等の各種ペプチドホルモンやビテロジェニン等、組織特異的に発現する分子、DNAラベリングによる細胞分裂活性の測定、アポトーシス特異的DNA断片等が有用な分子マーカーとして期待できる。また、マーカー分子が発現－作用するどの段階で検出・評価するかも問題である。実験生物においてはmRNA

の発現量が優れたマーカーとなっているが、mRNAは非常に壊れやすく、屋外サンプリングには困難を伴う。このため水産重要魚種に対しては、mRNAに対応するcDNA塩基配列情報を基にして作成した抗体によって、対応するタンパク質の免疫化学的検出を行うことが有効な戦略の一つである（表1）。

実験魚類においてはステロイドホルモンも重要な成熟関連の指標であるが、低分子のため、組織学的に局在を調べるのが困難である。従って、この物質の作用に関する適切な評価には血中濃度を測定する必要がある、採血を伴うため、現在のところ水産重要魚種に用いるにはあまり適しているとは言えない。しかしながら、真骨魚類の主要な雌性ホルモンは実質上エストラジオール17βのみ、最終成熟を誘起する黄体ホルモン系ステロイドも17α、20βジヒドロキシ-4-プレグネン-3-オン、17α、20β、21トリヒドロキシ-4-プレグネン-3-オンのほぼ2種類のみであり、同一系統のホルモンでも魚種によってアミノ酸配列が微妙に異なるタンパク系ホルモンと違って、魚種の違いによる分子の差をあまり考慮しなくて良いという長所がある。今後、技術の発達により、飼育魚を用いた再生産パラメーターの評価が普遍的に行えるようになれば、これらのステロイドホルモンも指標として非常に有用であろう。

1) 排卵後濾胞

排卵後濾胞の存在は古くから知られており、その出現が産卵の確たる証明となることから生殖生物学上極めて重要である。特に近年は、新鮮な排卵後濾胞を検出することによってDEPM（Daily Egg Production Method）法で資源量の直接推定が可能なが示され、資源生物学上も重要な指標物となっている（Lasker，1985；栗田，2006；松山，2006；渡邊，2006）。

排卵後濾胞の検出には通常はパラフィン切片の光学顕微鏡観察法を用いる。しかしながら、通常のヘマトキシリン-エオシン染色では、新しい排卵後濾胞は検出可能であるが、退縮するにつれて他の結合組織との区別が困難になり、判別不可能になることに限界があった。一方、近年になってPAS（Periodic Acid Schiff；

表1. mRNAとタンパク質の分子マーカーとしての特徴

	安定性	機能	配列決定	定量	局在
mRNA	極めて不安定	翻訳後	容易（cDNA）	ノーザン解析 定量的PCR	<i>in situ</i> バイブリダイゼーション
タンパク質	比較的安定	自身	容易でない	RIA, EIA, FIA	免疫組織化学

cDNA シークエンスデータの情報を用いて抗体を作成し、免疫化学的に同定、定量するのが有効。

多糖類及びその関連物質に特異的な染色法) 染色を行えば判別の感度が著しく上昇することが明らかとなった。完成した濾胞細胞は1層ではなく、結合組織性の夾膜細胞層と立方上皮性の顆粒膜細胞層とよりなっており、その間に非細胞性の基底膜が存在する。これは多糖類を多く含むためPAS反応に強陽性である。非常に薄いために未排卵濾胞では強拡大しないと観察しづらいが、排卵後は濾胞層全体が著しく収縮するために基底膜も凝縮し、観察が非常に容易になる(図 2-a)。また、非細胞性のため再吸収も一般に遅れるので、アユではPAS染色を行うことによって古い排卵後濾胞も検出可能となり、退行段階の異なる新旧2種類あるいは3種類の排卵後濾胞を区別できるようになって、多回産卵が直接的に証明でき、バッチ産卵数の変化が明らかになる等、産卵回数に関する知見が著しく向上した(Shimizu *et al.*, 2005; 清水ら, 未発表)。古い排卵後濾胞の検出に関しては、退行卵との鑑別が重要であるが、退行卵には卵膜の残滓が必ず含まれており、アユの場合はこの残滓は長期間残り、しかも基底膜とは染色性や形態が異なるため、判別可能である。他の魚種に関しては、両者の形態的な変化を十分に把握して判別の可能性を確かめることが必要である。

より高度な手法としては排卵後濾胞に特異的に出現する分子を検出する方法が考えられる。メダカでは、特異的なプロテアーゼ(ゼラチナーゼB)が排卵後濾胞にのみ存在することが知られており(Matsui *et al.*, 2000)、近縁なサンマにおいても抗メダカゼラチナーゼB抗体による免疫染色によって排卵後濾胞が染色されることがわかっている(清水ら, 未発表)。しかしながらその反応は弱く、実用性に関しては今後の改良を待つ必要があるようである。

2) ビテロジェニン

ビテロジェンは卵の栄養蓄積に直結する物質であり、この動態は生殖活性の評価に重要である。実験魚等においては、一般的な卵黄合成活性の評価には、血漿中のビテロジェンを免疫化学的に測定することが多い。しかしながら、このためには採血が必要であり、水産重要魚種への適用としてはサンプリング実施上困難な場合がある。このような場合には、肝臓の組織標本を抗ビテロジェニン抗体で免疫染色してその動態を調べる手法が考えられる。

肝臓の組織像と血中ビテロジェニン量との関連に関しては今のところ十分な知見が得られているとは言えないが、同一種において血中ビテロジェニン量と肝臓組織像との対応を確かめておけば、将来的には免疫組織化学のみによって卵黄合成活性の評価を行うことも

可能になると考えられる。現在、サンマにおいて肝臓の抗ビテロジェニン抗体による免疫染色が可能となっており(図 2-b)、また、ELISA (Enzyme Linked Immunosolvent Assay) による血漿中ビテロジェニンの測定系の開発が進行中で(原と巢山, 私信)、近い将来にはこの両者の解析及び比較が行えるようになる見込みである。

卵巣組織そのものでは、現在の成熟状態がわかっても、それがどの方面に向かっているか、すなわち成熟に向かうか退縮に向かうかは必ずしも判断がつけがたい。卵黄合成活性の評価が出来るようになれば、それがかなりの程度まで可能になると思われる。実際、カダヤシにおいては、産卵期前の魚を成熟促進条件(高温長日)に移した場合、GSI上昇等の生殖腺の発達が

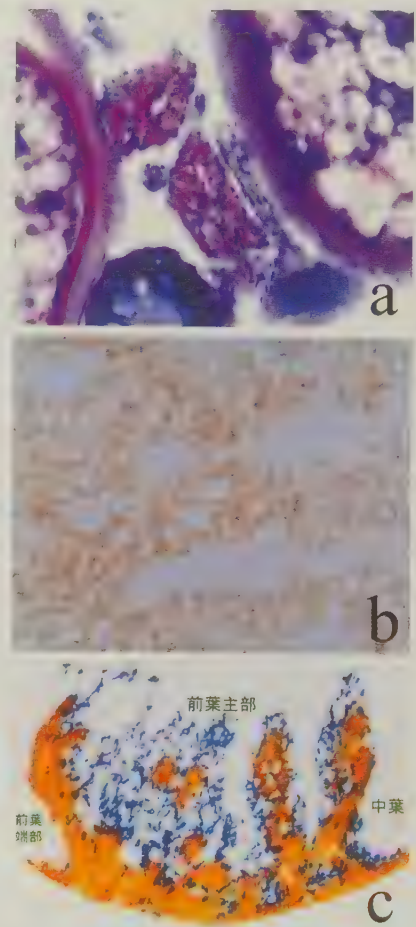


図 2. : 生殖活性評価のための各種特異的染色。a : アユの古い排卵後濾胞(中央部の2個)のPAS染色像。凝集した基底膜が強く赤染している。b : 抗サンマビテロジェニンで免疫染色を行ったサンマ肝臓。茶色部分がビテロジェニンの免疫反応。c : 二重免疫組織化学により染色を行ったマミチョグ下垂体のFSH細胞(青色)とLH細胞(茶色)。

認められる前に血中ピテロジェニン濃度の上昇が起こることが明らかにされている (Koya *et al.*, 2003)

3) 生殖腺刺激ホルモン (GtH)

前述のとおり、生殖腺刺激ホルモン (FSHとLH) は生殖現象の大部分に関与している非常に重要な下垂体ホルモンである。真骨魚類におけるこのホルモンは、従来はLHに相当するものの一つのみが知られていたが、1988年にFSHに相当する分子 (当初はGtH-Iと呼ばれ、従来からのLHに相当する分子はGtH-IIと呼ばれた) が発見され、四足動物と同様、魚類においても2種類の分子があることが明らかとなった (Suzuki *et al.*, 1988a)。現在のところ、大部分の魚類において2種類の生殖腺刺激ホルモンが存在するものと考えられている。哺乳類においては、FSHとLHは同一の細胞で産生されると考えられているが、多くの魚類では別々の細胞で産生されている (Nozaki *et al.*, 1990; 小林と孫, 2000; Shimizu *et al.*, 2003b)。しかし、近年になって、FSHとLH両方を産生する細胞を持つ魚種の存在も報告されている (García-Hernández *et al.*, 2002; Shimizu *et al.*, 2003)。

(1) 生殖腺刺激ホルモンの生理作用

魚類の脳下垂体を摘出するといかなる成熟状態の魚でも生殖腺の急速な退縮が起こり、短期間のうちに極めて未熟な状態になってしまうという古くからの実験結果からも、ほとんど全ての成熟現象にGtHが直接あるいは間接的に関わっていることは明らかで、卵母細胞の成長、卵黄蓄積、ステロイド合成、卵成熟、排卵等の調節に関与していると考えられている (小林と孫, 2000; 田中, 1991)。

2種類のGtHの動態を調べることによって、卵黄合成活性と同様に、成熟がどの方面に向かっているかを知る手がかりになりうる。現在のところ、最大の問題は、FSH、LHそれぞれの生物活性が良く分かっていないこと、すなわち、GtH全体の役割としては比較的理解がなされているが、サケ科魚類を除いてFSHとLHの役割分担がほとんどわかっていないことである。大部分の魚類において、最終的な卵成熟にはLHが重要な働きをしていることは予想されているが (松山, 2006)、他の生殖現象に関しては、わずかな報告間の比較でも魚種による相当の違いがあり (Suzuki *et al.*, 1988b; Kagawa *et al.*, 1998, 2003; Van Der Kraak *et al.*, 1992)、魚類全体におけるFSHとLHの役割分担はかなり多様である可能性がある。

後述のユニバーサル抗体を用いた免疫組織化学的方法によると、同様の成熟状態の魚でも、魚種によって2種類のGtH細胞の分布密度が著しく異なることが明

らかとなっている。また、ELISA系などの開発による定量法の確立や*in vivo*または*in vitro*投与実験等による生理作用の解析がGtHの機能を明らかにするには必須であり、今後の研究展開に待つところが多い。

(2) 生殖腺刺激ホルモンの産生細胞の検出とその動態

組織切片中のFSH及びLHを特異的に染める一般染色法は知られていない。従って、それぞれの生殖腺刺激ホルモン分泌細胞の検出には免疫組織化学等の手法が必要である。以前は、それぞれのGtHに対する特異的抗体が一部の魚種でしか得られておらず、染色可能な魚種が少ないことが問題であったが、cDNA塩基配列情報 (Lin *et al.*, 1994) を利用し、アミノ酸配列の保存性の高い領域に対応した合成ペプチドを抗原に用いたユニバーサル抗体の利用により、棘鰭上目魚類 (スズキ目、カレイ目、フグ目、カダヤシ目、ダツ目等を含む巨大な分類群) ではほぼ染色が可能となった (図 2-c; Shimizu *et al.*, 2003a,b)。また、これらの抗体を用いることによって、棘鰭上目魚類に属する水産重要魚種 (マサバ、ゴマサバ、サンマ、ヒラメ等) の2種類の生殖腺刺激ホルモン分泌細胞の同定と分布密度等の測定が可能となった (清水ら, 未発表)。

マミチョグ (北米原産のカダヤシ目広塩魚) の脳下垂体の観察により、生殖年周期に伴って、FSH細胞とLH細胞のそれぞれが特徴的な変化を示すことが知られている (Shimizu *et al.*, 2003c)。特に、初秋 (産卵期終了後) の最も未熟な時期においては、FSH細胞は当歳魚、1歳魚ともわずかである一方、LH細胞は1歳魚ではかなり存在するが、当歳魚ではわずかしかいないことが判明しており (清水, 未発表)、経産魚と未産魚の区別に使える可能性がある。また、長期にわたり多回産卵を行うハゼの一種チチブにおいて、産卵期の前期と後期では主要なGtH細胞 (恐らくLH細胞; この報告の時点では、魚類のFSHはまだ知られていなかったためGtHと表現されている) の微細構造が異なることが明らかにされており (Kaneko *et al.*, 1986)、個体毎の産卵履歴の指標になりうる可能性が示唆される。さらに、カダヤシにおいては、産卵期前の自然条件から成熟促進条件 (高温長日) に移行後、生殖腺に変化の現れていない時期 (3日後) において既にFSH細胞の増加が観察されており (Koya *et al.*, 2003)、成熟状態変化のより鋭敏な指標となることが期待できる。

また、本特集号の記述 (奥沢, 2006) にあるように、初回成熟においては視床下部-脳下垂体系の発達がキーポイントとなっており、将来的には初回産卵年齢の変動を解析する手段としても活用可能と考えられる。

(3) 生殖腺刺激ホルモンの精製と定量

生殖腺刺激ホルモンの生理作用の研究や、生殖腺ホ

ルモン血中濃度の測定には、原則としてホルモンの精製が必要である。従来は、大量の脳下垂体の入手に大きな労力や費用を有すること、糖鎖部分の不均一性に基づく分離の困難性、精製途中におこるサブユニット解離、FSH及びLH特異的な生物活性評価の困難性の問題等のため、精製（特にFSHとLHの分離）が難しかったが、cDNA情報を利用した抗ペプチド抗体の利用や高速液体クロマトグラフィーの活用（特に疎水クロマトグラフィーの利用）によってこれらの問題も解決可能となってきた（Shimizu and Yamashita, 2002）。また、バイオテクノロジーの発達によってリコンビナントホルモン（遺伝子導入によって人為的に生産したホルモン）の利用も将来的には期待できる（吉崎ら, 2000）。現在、血中LH濃度の測定系は様々な魚種で開発されているが、血中FSH濃度の測定系はサケ科魚類（Govoroun *et al.*, 1998; Prat *et al.*, 1996; Suzuki *et al.*, 1988c）を除いて得られていない。これは、血中濃度測定系作製に必要なFSHの純品が得られた魚種が少ないことが主な原因である。しかしながら、精製法の発達やリコンビナントホルモンの利用などによって、今後は2種類のGtHの動態が多くの魚種で明らかにされるようになるであろう。

4) 将来の統合的研究に向けて

以上において代表的なものを例示した生殖生物学上重要な3系統であるが、将来的には、生殖システムとして統合的に解析・評価してゆくことが望ましい。現在のところ、水産重要魚種、特に大部分の多獲の浮魚類の生殖生理学的研究は著しく遅れており、統合的研究以前の個々の研究、すなわち、生理生化学的手法を用いた生殖腺の構造と機能に関する研究、生殖内分泌系及び卵黄合成系に関する生理学的研究等がまだ始められたばかりの段階である。従って、具体的な統合的研究のイメージをここに示すことは困難であるが、最も近いステップとしては、これら3系統の活性（見かけ上を含む）の乖離を見出し、その差を解析することが挙げられる。生殖現象がこれら3系統が密接に協同して働いている現象であれば、単純に、これらの活性はきれいに同調して変化するとみなされがちだが、上述したように実際はそうならない場合がしばしばある。これは、上位中枢からの情報が下位の器官に伝わって効果が現れるまでのタイムラグや、ホルモンとリセプターとの発現時期の食い違い、残滓の分子の存在による真の活性と見かけの活性との差等に起因するものと考えられる。そういった現象を追求することは、逆説的に聞こえるが、解析に効果的な切り口をつかむことにつながる。効果的な指標を探ることによって探求の

糸口をつかみ、時期特異的なマーカー分子の検出法の開発等、実際的な応用研究を行うとともに、3系統間を仲介する分子に関する基礎的研究を進めることが重要である。これをもとに仲介分子の機能と動態の解明という次の研究段階に進むことが可能となり、将来的には本格的な統合的研究が行えるようになってくるものと思われる。

4. おわりに

水産重要魚種の生物特性に関する知見は、生態学的特性に関しては研究の蓄積がかなりあるが、生理学的特性については研究が極めて少ない。生理学的パラメーターは、遺伝子工学、バイオテクノロジー、ポストゲノム研究などの成果を活用することが出来るため、通常の生態学的手法では検出不可能な差異や変化を精度良く検出することが可能である。従って、将来の研究に期待するものが非常に大きい。

水産重要魚種（特に多獲性浮魚類）の生殖内分泌学的研究は、従来ほとんど手が付けられて来なかった分野で、現在始まったばかりの段階である。言うまでもなく、これらの魚種を用いることに対する手法上の困難性によるものであるが、資源評価対象魚種においてABC算出値の妥当性が求められており、その精度向上が今後必須の課題であること、このために生物学的知見のさらなる向上が求められていることを考えると、この方向の研究の重要性は今後ますます増大して行くものと考えられる。

文 献

- 会田勝美, 1989: 成熟・産卵の内分泌支配, 「水族繁殖学」(隆島史夫, 羽生 功編), 緑書房, 東京, pp. 65-102.
- 会田勝美, 小林牧人, 金子豊二, 1991: 内分泌, 「魚類生理学」(板沢靖男, 羽生 功編), 恒星社厚生閣, 東京, pp.167-241.
- 足立伸次, 2000: 成熟・産卵の人為的制御と卵質, 月刊海洋, **32**, 120-126.
- 天野勝文, 2006: 魚類の性成熟と生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン(GnRH), 水研センター研報, 別冊第4号, 71-73.
- García-Hernández M. P., García-Ayala, A., Matthijs A., Zandbergen, M. A., Agulleiro, B., 2002: Investigation into the duality of gonadotropic cells of Mediterranean yellowtail (*Seriola dumerilii*, Risso 1810): immunocytochemical and ultrastructural studies. *Gen. Comp. Endocrinol.* **128**,

- 25-35.
- Govoroun M., Chyb J., and Breton B., 1998: Immunological cross-reactivity between rainbow trout GTH I and GTH II and their α and β subunits: application to the development of specific radioimmunoassays. *Gen. Comp. Endocrinol.* **111**, 28-37.
- Kagawa H., Gen K., Okuzawa K., and Tanaka H., 2003: Effects of luteinizing hormone and follicle stimulating hormone and insulin-like growth factor-I on aromatase activity and P450 aromatase gene expression in the ovarian follicle of red seabream, *Pagrus major*. *Biol. Reprod.* **68**, 1562-1568.
- Kagawa H., Tanaka H., Okuzawa K., and Kobayashi M., 1998: GTH II but not GTH I induces final maturation and the development of maturational competence of oocytes of red seabream *in vitro*. *Gen. Comp. Endocrinol.* **112**, 80-88.
- Kaneko T., Aida K., and Hanyu I., 1986: Ultrastructural changes in the pituitary gonadotropes during the annual reproductive cycle of the female chichibu goby *Tridentiger obscurus*. *Cell Tissue Res.*, **246**, 137-144.
- 小林牧人, 孫 永昌, 2000: 生殖腺刺激ホルモン. 月刊海洋, **32**, 74-80.
- Koya Y., Sawaguchi S., Shimizu K., and Shimizu A., 2003: Endocrine changes during the onset of vitellogenesis in spring in the mosquitofish. *Fish Physiol. Biochem.*, **28**, 349-350.
- 栗田 豊, 2006: 野外調査と飼育実験を併用した魚類の繁殖特性研究. 水研センター研報, 別冊第4号, 87-99.
- Lasker R. (ed.), 1985: An egg production method for estimating spawning biomass of pelagic fish: application to the northern anchovy, *Engraulis mordax*. NOAA Technical Report NMFS **36**, NOAA, 190pp.
- Lin Y.-W. P., Rupnow B. A., Price D. A., Greenberg R. M., and Wallace R. A., 1992: *Fundulus heteroclitus* gonadotropins. 3. Cloning and sequencing of gonadotropic hormone (GTH) I and II β -subunits using the polymerase chain reaction. *Mol. Cell. Endocrinol.* **85**, 127-139.
- Matsui H., Ogiwara K., Ohkura R., Yamashita M., and Takahashi T., 2000: Expression of gelatinases A and B in the ovary of the medaka fish *Oryzias latipes*. *Eur. J. Biochem.* **267**, 4658-4668.
- 松山倫也, 2006: 多獲性浮魚類の再生産研究高度化に向けての生殖生理学的手法の適用. 水研センター研報, 別冊第4号, 51-62.
- 長浜嘉孝, 1991: 生殖: 配偶子形成の制御機構, 「魚類生理学」(板沢靖男, 羽生 功編), 恒星社厚生閣, 東京, pp.243-286.
- Nozaki M., Naito N., Swanson P., Miyata K., Nakai Y., Oota Y., Suzuki K., and Kawauchi H., 1990: Salmonid pituitary gonadotropins I. Distinct cellular distributions of two gonadotropins, GTH I and GTH II. *Gen. Comp. Endocrinol.* **77**, 348-357.
- 奥澤公一, 1991: 生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン, 「海産魚の成熟・産卵リズム」(廣瀬慶二編), 恒星社厚生閣, 東京, pp. 27-37.
- 奥澤公一, 2006: 魚類の初回成熟. 水研センター研報, 別冊第4号, 75-85.
- Prat F., Sumpter J. P., and Tyler C. R., 1996: Validation of radioimmunoassay for two salmon gonadotropins (GTH I and GTH II) and their plasma concentrations during the reproductive cycle of male and female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Biol. Reprod.* **54**, 1375-1382.
- Shimizu A. and Yamashita M., 2002: Purification of mummichog (*Fundulus heteroclitus*) gonadotropins and their subunits, using an immunochemical assay with antisera raised against synthetic peptides. *Gen. Comp. Endocrinol.* **125**, 79-91.
- Shimizu A., Kagawa H., and Tanaka H., 2003a: Immunocytochemical identification of gonadotrophs (FSH cells and LH cells) in various perciform fishes using antisera raised against synthetic peptides. *Fish Physiol. Biochem.*, **28**, 109-110.
- Shimizu A., Sakai T., Nashida K., and Honda H., 2003b: Universal antisera for immunocytochemical identification of two different gonadotrophs in acanthopterygian fishes. *Fish Physiol. Biochem.*, **29**, 275-287.
- Shimizu A., Tanaka H., and Kagawa H., 2003c: Immunocytochemical applications of specific antisera raised against synthetic fragment peptides of mummichog GtH subunits: examining

- seasonal variations of gonadotrophs (FSH cells and LH cells) in the mummichog and applications to other acanthopterygian fishes. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **132**, 35-45.
- Shimizu A., Uchida K., Abe S., Udagawa M., Sato T., and Katsura K., 2005: Evidence of multiple spawning in wild amphidromous type ayu. *Fish. Sci.*, **71**, 1379-1381.
- Suzuki K., Kawauchi H., and Nagahama Y., 1988a: Isolation and characterization of two distinct gonadotropins from chum salmon pituitary glands. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **71**, 292-301.
- Suzuki K., Nagahama Y., and Kawauchi H., 1988b: Steroidogenic activities of two distinct salmon gonadotropins. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **71**, 452-458.
- Suzuki K., Kanamori A., Nagahama Y., and Kawauchi H., 1988c: Development of salmon GTH I and GTH II radioimmunoassays. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **71**, 459-467.
- 高野和則, 1989: 卵巣の構造と配偶子形成, 「水族繁殖学」(隆島史夫, 羽生 功編), 緑書房, 東京, pp.3-34.
- 田中秀樹, 1991: 生殖腺刺激ホルモン, 「海産魚の成熟・産卵リズム」(廣瀬慶二編), 恒星社厚生閣, 東京, pp.38-49.
- Van Der Kraak G., Suzuki K., Peter R. E., Itoh H., and Kawauchi H., 1992: Properties of common carp gonadotropin I and gonadotropin II. *Gen. Comp. Endocrinol.* **85**, 217-229.
- 渡邊千夏子, 2006: 資源学的立場からみたマサバ太平洋系群の生殖生態研究の現状と問題点. 水研センター研報, 別冊第4号, 101-111.
- 吉崎悟朗, 森田哲朗, 竹内 裕, 竹内俊郎, 小林牧人, 2000: 遺伝子導入魚を利用した生殖腺刺激ホルモン生産の試み. 月刊海洋, **32**, 127-131.

魚類の性成熟と生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH)

天野 勝文*

Reproduction and GnRH in Teleost Fish

Masafumi AMANO*

Abstract Gonadal maturation in teleost fish is primarily regulated by the brain-pituitary-gonadal axis. Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) stimulates the synthesis and release of pituitary gonadotropin (GTH), and GTH stimulates the secretion of steroid hormones from the gonads. Recent study has shown that in teleosts, two or three molecular forms of GnRH exist even within the same species. Three GnRH neuronal systems exist in teleost fish judging from the location of GnRH neuronal somata and their projections; the preoptic area GnRH system (GnRH-I), the midbrain tegmentum GnRH system (GnRH-II), and the terminal nerve GnRH system (GnRH-III). Among the three GnRH systems, GnRH-I system is considered to regulate GTH secretion, because it is the main system that projects directly to the pituitary. GnRH-II and GnRH-III systems are suggested to function as neuromodulators in the brain.

Key words: GnRH, GTH, water temperature, photoperiod, brain, pituitary

魚類の繁殖パターンは大きく3つに分けられる。まず、1年の中の特定の時期に繁殖期があり、その繁殖期に1回だけ産卵するパターンで、サケやヤマメなどがその例である。2つめは、1年の中の特定の時期に繁殖期があり、その繁殖期に繰り返して産卵するグループで、マダイ、キンギョ、メダカなどがその例である。3つめは、特定の繁殖期をもたずに1年中産卵するグループで、熱帯に生息する魚類などがあてはまる。このような現象は、日長や水温などの環境要因と魚類自身の生理要因が性中枢で統合された結果であると考えられる。本稿では、最上位で生殖現象を制御すると考えられる生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン(gonadotropin-releasing hormone, GnRH)について概説する。

1. GnRHの分子種

GnRHは脳下垂体からの生殖腺刺激ホルモン(GTH)

の放出を促進するホルモンとして、1970年代初頭に哺乳類で最初に発見された、アミノ酸10個のペプチドホルモンである。現在までに脊椎動物では、哺乳類型、ニワトリI型、II型、サケ型、ナマズ型、タイ型、メダカ型、サメ型、ヤツメウナギI型、III型など計14種類のGnRHが同定されている。1980年代後半から、魚類も含めて一動物種に複数のGnRH分子種が存在することがわかってきた。最近では、ホヤなどの原索動物やタコなどの無脊椎動物にもGnRHが存在することが報告されている (Gorbman and Sower, 2003)。

2. GnRHニューロンの脳内分布

GnRHニューロンの脳内分布は特異的な抗体を用いた免疫組織化学法で調べられている。その結果、脳内においてGnRHが多様な機能をもつことが明らかになってきた。最近、GnRHの機能と存在領域に応じて、

GnRHを命名することが提唱されている (Fernald and White, 1999) (図 1A)。GnRH-I は脳下垂体に投射してGTH分泌を促進する本来のGnRHのことで、細胞体は視索前野に存在する。GnRH-II は細胞体の中脳被蓋にあるものでニワトリ II 型GnRHが相当する。そして、終神経節に細胞体が存在するものをGnRH-III と呼ぶ。GnRH-II とGnRH-III は脳下垂体には投射しない。したがって、GTH分泌には関与せずに脳内で神経修飾物質として機能すると考えられている。一般的に、3 種類のGnRHをもつ魚種では、細胞体が3箇所明瞭に分かれて存在している。ところが、2 種類のGnRHしかもたない魚ではGnRH-II の細胞体は中脳被蓋に存在するものの、嗅球から視索前野にかけてGnRH-I とGnRH-III の細胞体が散在している。その中で、視索前野に位置する細胞体がGTH分泌に関わるのであろう (図 1B)。GnRH-II とGnRH-III の機能については不明な点も多いが、哺乳類ではGnRHの脳内投与で食欲が減少するという興味深い現象が最近報告された (Kauffman and Rissman, 2004)。魚類においても、GnRH神経線維の広範な脳内分布を考えると、GnRHが脳内において食欲制御に関わる可能性が考えられる。

3. 環境要因とGnRH

日長とGnRH、水温とGnRHとの関連については、サクラマスとホンモロコでそれぞれ報告がある。サクラマスの一部の雄は満1才の秋に排精する。排精時期は6月からの短日処理で早まり長日処理で遅れることから、日長がGnRH遺伝子の発現を介して排精を制御すると

考えられた。そこで、6月から短日または長日処理を施すと、視床下部のGnRH発現量が両日長処理群とも排精時に増加することがわかった (Amano *et al.*, 1995)。ホンモロコの雄では、水温15℃においては性成熟が進むが、30℃では精巣が退縮する。脳内のGnRH量は15℃下において30℃下よりも高かった。この結果は、ホンモロコにおいて水温の情報がGnRHニューロンに伝達され、その結果として性成熟の進行が左右されることを示唆する (Okuzawa *et al.*, 1994)。

4. おわりに

水産重要魚種における水温とGnRHとの関連についてはほとんど研究が行われていない。水温の情報がどのような機構で脳内のGnRHニューロンに達するのかは重要かつ興味深い問題である。今後、水温および日長が生殖機構に与える影響についての研究が進展し、その成果が水産増養殖に応用されることが期待される。

文 献

- Amano M, Hyodo S, Kitamura S., Ikuta K., Suzuki Y., Urano A., and Aida K., 1995: Short photoperiod accelerates preoptic and ventral telencephalic salmon GnRH synthesis and precocious maturation in underyearling male masu salmon. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **99**, 22-27.
- Fernald R.D. and White R.B., 1999: Gonadotropin-releasing hormone genes: phylogeny, structure, and functions. *Front. Neuroendocrinol.*, **20**, 224-

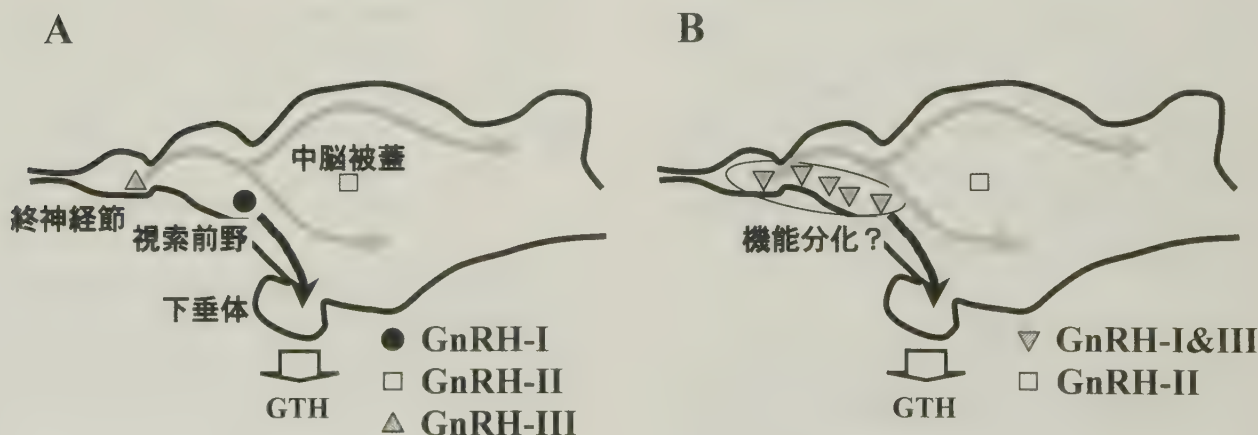


Fig. 1. (A) Schematic illustration of GnRH-I, II and III of teleost fish which has three forms of GnRH. (B) Schematic illustration of GnRH-I, II and III of teleost fish which has two forms of GnRH.

- 240.
- Gorbman A. and Sower S.A., 2003: Evolution of the role of GnRH in animal (Metazoan) biology. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **134**, 207-213.
- Kauffman A. S. and Rissman E. F., 2004: A critical role for the evolutionarily conserved gonadotropin-releasing hormone II: mediation of energy status and female sexual behavior. *Endocrinology* **145**, 3639-3546.
- Okuzawa K., Furukawa K., Aida K., and Hanyu I., 1994: The effects of water temperature on gonadotropin-releasing hormone contents in the discrete brain areas and pituitary of male honmoroko *Gnathopogon caerulescens*. *Fish. Sci.*, **60**, 155-158.

魚類の初回成熟

奥澤 公一*

Puberty in Teleost

Koichi OKUZAWA^{*1,2}

Abstract Puberty is the process by which animals acquire for the first time the ability to reproduce. In teleost fishes, an understanding of the mechanism underlying pubertal development is important not only for basic science but also for aquaculture. In this article, recent progress in several aspects of puberty in teleosts is reviewed; namely, pubertal changes in brain-pituitary-gonad axis, factors controlling the timing of the onset of puberty and artificial control of puberty. In addition, possible future directions of study are suggested.

Key words: puberty, GnRH, gonadotropin, LH, FSH, steroid

初回成熟ないし春機発動期（思春期）の到来（Puberty）とは、動物がその一生の中で初めて生殖能力を獲得する過程である（図1）。本総説では用語として主に初回成熟を使用し、必要に応じて他の用語（春機発動期、思春期）も使用する。魚類（本総説では真骨類を指すこととする）では性分化が完了した後、魚種ごとに異なる適当な時期に初回成熟の引き金が引かれる。初回成熟の開始は、雄では精子形成の開始、雌では卵黄蓄積の開始が目安となる（図1）。しかし、ある種の魚では本当の初回成熟が起こる1年前に生殖腺が途中まで発達する（しかし完成に至らない）現象が観察される。この不完全な初回成熟（ダミーラン=予行演習とよぶ研究者もある）の過程においても本当の初回成熟の場合と同様、血液中や脳下垂体中の生殖腺刺激ホルモン（ゴナドトロピン、GTH）濃度の上昇あるいは脳や脳下垂体中の生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン（GnRH）濃度の上昇が観察される。文献によってはこのような途中で止まってしまう中途半端な成熟過程をも初回成熟とみなしているものもあるが、ここでは完全な成熟、すなわち機能的な卵および精子の完成にいたる場合のみを初回成熟として取り扱う。

Goosがその著書（Goos, 1993）で述べたように、魚類の初回成熟機構の理解およびその制御技術の開発は、基礎生物学上の重要性にとどまらず、水産増養殖への応用にとっても非常に重要である。たとえば、マグロ、ハタ、チョウザメなど大型の魚種では、初回成熟の開始までに多年月を要し、親魚の確保に要する時間、餌、労力、施設などのコストがかさむ。もしこのような魚種の初回成熟を制御し、まだ小型のうちに成熟・産卵させることができればコスト削減に大いに役立つ。また逆に、サケ科魚、コイ、スズキや大西洋タラなどでしばしば問題となる産業上好ましくない成長の遅滞や肉質の低下を引き起こす早熟の抑制技術にも貢献することが期待される。

初回成熟（思春期）は哺乳類において最もよく研究されており、これまでに以下のようなことが明らかになっている。

- 1) 性成熟に中心的役割を果たすGTHを分泌させる機構は発生の初期に完成している。
- 2) GTHを拍動的に分泌させるGnRHのパルス状の分泌活動は、思春期の到来まで中枢神経系により抑制されている。この抑制には生殖腺でつくられる性ス

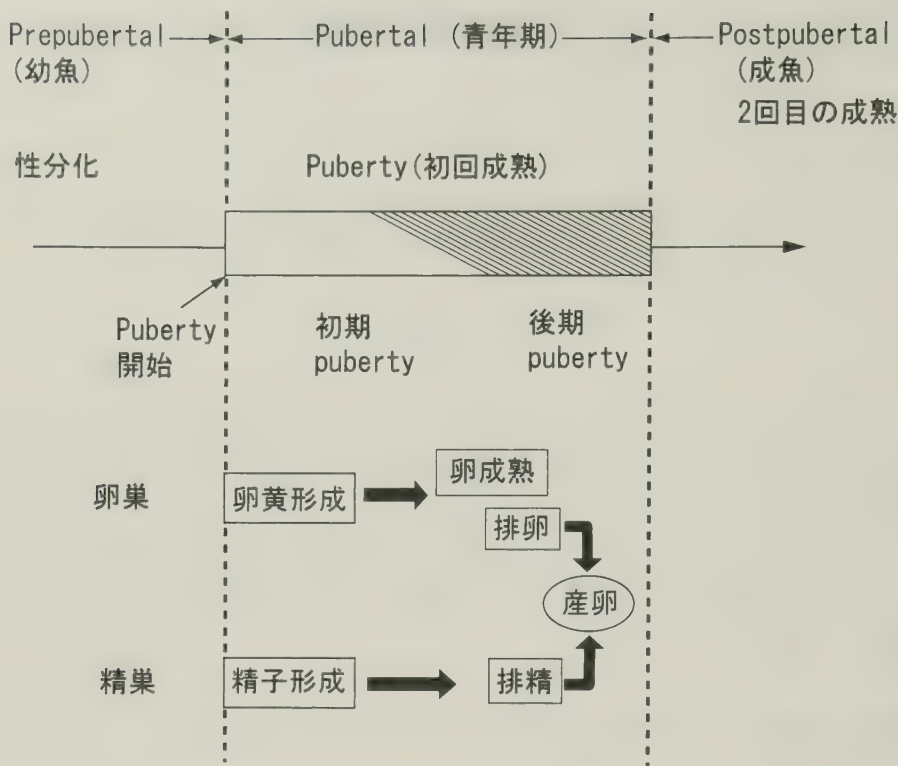


Fig. 1. A diagram explaining the process of puberty in teleost.

テロイドホルモンが負のフィードバック機構により関与していることはわかっているが詳細は不明である。

3) その後、この中枢神経系の抑制が弱まり、GnRHのパルス状の分泌が再活性化され、続いてGTHが分泌され思春期が始まる。しかしこの抑制解除の機構はまだ不明である。

このように哺乳類においても思春期到来のメカニズムの全容解明にはいたっておらず、未だ生殖生理学上の最重要テーマのひとつとなっている。最近、思春期の到来にかかわる神経機構の一部が明らかになり、この問題の解決に大きな前進が見られた（詳細は後述）。

一方魚類では残念ながら研究は大きく遅れている。その原因としては、1) 研究のためのツールが確立していない。2) 遺伝学的な研究方法が確立されておらず、成熟に関する突然変異も知られていない。3) 魚類は哺乳類に比べはるかに大きな多様性を有するグループであるため、研究結果が魚種ごとに異なり知識の集積に障害となる。などがあげられる。本総説では魚類における初回成熟の研究の現状を紹介し今後の展望を述べる。

魚類の初回成熟過程における脳－脳下垂体－生殖腺軸の変化

脊椎動物の性成熟を支配する脳－脳下垂体－生殖腺軸

の活動は、初回成熟の開始に伴い活性化するものと考えられているが、魚類ではその詳細は明らかになっていない。哺乳類の雌では思春期の開始はGnRHのパルス状の分泌の再活性化によっておこるGTHのひとつである黄体形成ホルモン（LH）の一過性の上昇（サージ）およびそれにともなう発情周期の開始により特徴づけられる。そこで現在はGnRHのパルス状の分泌の再活性化のメカニズム解明が研究の中心となっている（Foster, 1994）。ところが、魚類ではGnRH分泌を調べることができないため（Okuzawa and Kobayashi, 1999）初回成熟におけるGnRHの役割の詳細は明らかでない。すなわち魚類では初回成熟の開始の引き金となる現象が特定されていない。この点に関し、現在2つの仮説が提唱されている。そのひとつはGonadostat仮説とよばれ、この仮説は哺乳類の場合とほぼ同様の考え方で、生殖腺の性ステロイドホルモンが負のフィードバック機構により上位の生殖内分泌系（GnRH系）を抑制し、なんらかのメカニズムによりこの抑制が解除されて初回成熟がおこるとの仮説である。2番目はMissing Link仮説とよばれ、未熟な状態においては生殖内分泌系のうち、一つ以上の要素の機能が完成していないため初回成熟が起こらないが、すべての機能が完成に至ったとき初回成熟が起こるとする仮説である。どちらの仮説が正しいのか未だ不明であるし魚種ごと

に異なっている可能性もある。

魚類における初回成熟の理解のためまずその過程における脳-脳下垂体-生殖腺軸の活動を脳から順に見ていきたい。

脳

GnRHは脳の神経細胞で合成される。魚類の脳では2ないし3種類の分子構造の異なるGnRHが合成・分泌されているが、このうちGTH放出に働くのは多くの魚種で1種類のみである。この種類のGnRHニューロンは脳の中の視索前野と呼ばれる部分に細胞体が存在し、軸索を脳下垂体に送っている。すなわちGnRHの放出は脳下垂体中でおこり近傍に存在するGTH産生細胞に働く。他のGnRHについては脳内において働いている様であるがその生理作用などの詳細は不明である(Okuzawa and Kobayashi, 1999; 天野, 2006)。この総説ではこのいわば真のGnRHである視索前野のGnRHのみを対象とし、GnRHという用語は視索前野のGnRH(真のGnRH)を指すものとする。

魚類では初回成熟にGnRHニューロンの活性化すなわちGnRH分泌量ないし分泌頻度の増加がともなうのか直接の証拠はまだない。初回成熟にGnRHが関係している間接的な証拠として以下の例がある。

- 1) サクラマスでは、初回成熟時に脳内のGnRH遺伝子の発現量(メッセンジャーRNA量)の増加(Amano *et al.*, 1995a; Amano *et al.*, 1997a)および脳下垂体中のGnRH濃度の上昇が見られる(Amano *et al.*, 1992, 1993)。
- 2) アフリカナマズでは、初回成熟にGnRH神経系の発達がともなう(Dubois *et al.*, 1998)。
- 3) マダイでは、初回成熟時に脳内GnRH濃度(Senthilkumaran *et al.*, 1999)および遺伝子発現量の増加(Okuzawa *et al.*, 2003)および脳下垂体中のGnRH濃度の増加(Senthilkumaran *et al.*, 1999)が起こる。

脳下垂体

初回成熟時の脳下垂体レベルでの変化としてはGnRH受容体とGTHを取り上げたい。マダイでは初回成熟時に脳下垂体中のGnRH受容体遺伝子の発現量が上昇する(奥澤ら, 未発表)。この上昇は初回成熟時に見られる他の生殖内分泌系の変化に先行することから、初回成熟におけるGnRH受容体の重要性が予想される。この点に関し今後さらに研究を深化させる必要がある。

GTHについては2種類のGTHのうちどちらが初回成熟の開始に重要かという点が問題となる。サケ科魚類では、成熟の初期(図1)に濾胞刺激ホルモン

(FSH)が、後期にはLHが分泌されること(Swanson, 1991)、また成熟初期の脳下垂体中のFSH濃度はLHに比べ高いこと(Amano *et al.*, 1992, 1993)から、初回成熟開始の引き金としては、LHよりFSHがより重要と考えられる。ストライプトバスでもFSHがより重要と判断しうるデータがある(Hassin *et al.*, 1999, 2000)。

これに対し、ヨーロッパスズキ(Rodriguez *et al.*, 2000)やマダイ(雌、雄では事情が異なる)(Gen *et al.*, 2000)では初回成熟開始におけるLHの関与を示唆する報告がある。しかしながらFSH測定系が欠如しているという事情からこれらの魚種でもFSHの重要性を否定するデータはない。今後、サケ科魚類以外のFSH測定系の開発を含む魚類のFSH研究を進める必要がある。

生殖腺

生殖腺は初回成熟過程によってその発達が引き起こされる器官であるとともに、様々な物質を産生し初回成熟過程を調節する役割も担う。例外なく初回成熟(初回に限らないが)には性ステロイドホルモンの血液中の濃度上昇が伴う。マスノスケの雄では精子形成のごく初期から血液中の11-ケートテストステロン(11KT)の上昇が見られる(同時に血液中および脳下垂体中のFSH濃度も上昇する)(Campbell *et al.*, 2003)。この変化は産卵期を迎える1年も前に認められ、翌年に成熟するか否かの判断に使用できる。ステロイド以外の生殖腺がつくる因子としてペプチド(タンパク)であるアクチビンがある。キンギョではアクチビンはFSH合成を促進しLH合成を抑制するとの報告がある(Ge, 2000)。初回成熟におけるアクチビンの役割については今後の研究を待たねばならない。

初回成熟を調節する因子

初回成熟の開始は種々の内的(遺伝的)、外的(環境)要因に規定される。生殖腺をはじめとする生殖内分泌系の発達過程も個体の発生プログラムの一部であるから、種ごとに決まった初回成熟に要する最小時間というものが存在するであろう。つぎに内的(遺伝的)要因をクリアしたあとに外的(環境)要因により制限され、その制限が取り除かれたときに初回成熟が起こる。具体的には魚が成長し成熟可能な大きになる。その後、成熟に好適な環境条件の下で(温度や日長)成熟するといった具合である。外的(環境)要因に関しては本特集号の総説(清水, 2006)を参照していただくこととし、本稿では特に内的要因について議論したい。ヒトをはじめとする哺乳類では思春期までは性成熟の

引き金は引かれない。魚でも魚種ごとに決まっている一定の大きさまでは性成熟が不可能と考えられており、このサイズは生物学的最小形と呼ばれる。しかし、動物の生殖内分泌系はどのようにして自己が生物学的最小形に達したことを知るのであろうか。これはまだどの動物でも回答が得られていない大きな問いである。ここではこの問いに関連して魚での研究の現状を紹介する。以下、性ステロイドと成長・代謝に関連する因子に分けて記述する。

性ステロイド

魚類における性ステロイドの初回成熟・春機発動における役割には未だ不明な点が多い。

- 1) 性ステロイドが初回成熟開始の引き金である。
- 2) 性ステロイドは必要要因であるが、開始の引き金ではない。

という2つの考え方がある。1)が当てはまると考えられているのがアフリカナマズ（雄）である。生殖腺が発達しその体積が増加するとステロイドホルモン（特に11KT）の産生量が増加し血液中の11KT濃度が上昇する。この濃度の上昇が初回成熟の引き金になる（Schulz and Goos, 1999）。これに対しDufourら（1999）は性ステロイドホルモンの正のフィードバック機構は初回成熟を促進するが開始の引き金ではないと主張している。いずれにせよ初回成熟を考える上ではフィードバック機構による脳ないし脳下垂体への作用、特に未熟魚における作用が重要である。

GnRHシステムに対する性ステロイドの促進的作用はサクラマス（Amano *et al.*, 1994a）、アフリカナマズ（Dubois *et al.*, 1998; Dubois *et al.*, 2001）、ティラピア（Parhar *et al.*, 2000）、ヨーロッパウナギ（Montero *et al.*, 1995）、マダイ（Okuzawa *et al.*, 2002）で報告されている。

FSHに対するフィードバックの結果は、魚種、成熟度、ステロイドの投与量・期間・方法によりまちまちである。あえて大胆にまとめてみると、FSHの合成、分泌は低濃度のステロイド（初回成熟の開始期に相当する濃度）では促進され、高濃度（性成熟の後期の濃度）では抑制されるという二相性の反応をすると考えられる。一方LHの方は比較的単純で共通して正のフィードバックが認められている。これは性成熟の最終段階（卵成熟、排卵）に重要な働きをするLHを成熟の過程で蓄積していくための合目的な機構であると思われる。

サケ科魚類を含む多くの魚種で性ステロイドホルモン（特にエストロゲンやテストステロンなど芳香化されるステロイド）のLH合成に対する正のフィードバックが報告されている。しかしサケ科ではLHへのフィード

バックは初回成熟開始には重要ではないと考えられる。なぜならこのグループでは成熟の初期にはFSHがより重要と考えられるからである。

サケ科魚では成熟の初期（血液中のステロイドレベルは低い）にはステロイドはFSHに対し適切なレベルに維持するように働き、後期（血液中のステロイドレベルは高い）にはFSHを減少させLHを増加させるよう働くのではないと思われる。

サケ科魚類以外の魚種では、初回成熟の開始にLHが関与する可能性も考えられる。この観点からすればブラティ（Schreibman *et al.*, 1986）、キンギョ（Huggard *et al.*, 1996）、ヨーロッパスズキ（Mateos *et al.*, 2002）など多くの魚種で報告のあるステロイドホルモンのLH合成に及ぼす正のフィードバックは重要かもしれない。しかしこれらの魚種ではFSHの血液中濃度のデータが欠落しているため、FSHの初回成熟における重要性に関しては不明である。あくまでも推測ではあるが、ほとんどの魚種において初回成熟の開始を含む成熟初期はFSHがより重要なのではないだろうか。今後の研究が待たれる分野である。

成長や代謝に関連する因子

個体は限られたエネルギーを自己の成長と配偶子形成に適切に振り分ける必要があるため、成長と成熟には密接な関係があることは明らかである。成長因子や代謝に関連するホルモンが脳-脳下垂体-生殖腺軸のいろいろなレベルに作用し、春機発動期（思春期）の到来を促進することが報告されている（Ojeda and Urbanski, 1994）。このような因子の中でも注目されているのはインスリン様成長因子I（IGF-I）である。IGF-Iは成長ホルモンの刺激により肝臓で作られる成長因子でサケ科魚では成長と密接な関係があることが報告されている（Beckman *et al.*, 1998; Beckman *et al.*, 2001）。サケ科魚類を中心とした報告で、このIGF-Iが、初回成熟に伴って上昇すること（Moriyama *et al.*, 1997; Le Gac *et al.*, 2000）、LHの合成および放出を促進すること（Huang *et al.*, 1998）、FSH合成にも促進的に働くこと（Baker *et al.*, 2000a）、GnRHに対するFSHおよびLHの感受性を高めること（Weil *et al.*, 1999）が知られている。しかし、IGF-Iが初回成熟開始の引き金となるという報告は無い。

哺乳類では、体脂肪率と初回成熟の関係が指摘されており、脂肪細胞で産生される飽食因子であるレプチンがこの両者を結びつけるものではないかと考えられていた（Friedman and Halaas, 1998）。レプチンの重度の欠乏やレプチン受容体の欠損により成熟が抑制されるが、ヒトでは思春期の開始時にレプチン濃度の

上昇は認められないことから、レプチンシグナルは必要条件ではあるが思春期を開始させるものではないと考えられる。魚でも脂肪の蓄積状態が成熟に影響することが知られている (Rowe *et al.*, 1991) ことから、成熟とレプチン (哺乳類のレプチンを用いた) の関係を調べた報告がいくつかある (Baker *et al.*, 2000b; Peyon *et al.*, 2001; Weil *et al.*, 2003) が、統一した見解が得られるには至っていない。最近トラフグからレプチンの cDNA が魚類ではじめてクローニングされた (Kurokawa *et al.*, 2005)。今後魚類自身のレプチンを用いた新たな研究の進展が期待される。

初回成熟の人為制御

環境条件 (光周期や水温) 操作やホルモン処理によって初回成熟のタイミングを制御することが可能である。水産増養殖上重要なサケ科、コイ科、スズキ類、タイ類、ヒラメ類、タラ類などで報告がある。以下、環境因子とホルモン処理に分けて見て行きたい。

環境因子による制御

光周期や水温など環境条件を操作することにより初回成熟を制御できる魚種が知られている。サケ科魚 (Bromage, 1987), オヒョウ (Imslund *et al.*, 1997), ヨーロッパスズキ (Zanuy *et al.*, 2001), 大西洋タラ (Hansen *et al.*, 2001) では光周期を調節することにより初回成熟を早めたり遅らせたりすることが可能である。一方光周期処理があまり有効ではない魚種もあり、著者らの予備的実験ではマダイはあまり光周期に反応しない。おそらく光周期は中枢神経系を介してその効果を生殖内分泌系に及ぼしていると考えられているが、その作用機構は不明である。長日条件から短日条件への変更により、サクラマスでは脳内の GnRH (Amano *et al.*, 1995b), 脳下垂体での FSH, LH 合成の増加 (Amano *et al.*, 1994b) が起こることが知られているが、GnRH より上位の機構に関してはまったく不明である。哺乳類で明暗周期の仲介者として性成熟に関与しているメラトニンの役割も魚類でははっきりしない。温度 (魚の場合は水温) は魚類の性成熟にとって重要なもうひとつの環境因子である (Lam, 1983; 清水, 2006)。また、水温と光周期の制御を組み合わせることで初回成熟をより有効に制御できる例も知られている。また、餌 (Hopkins and Unwin, 1997) や餌中の脂質の量 (Shearer and Swanson, 2000) が初回成熟に影響を与えるとの報告もある。

ホルモンによる制御

未熟な雄ニジマスへのテストステロンの長期間投与は精子形成の開始を引き起こす (Crim and Evans, 1983; Goos *et al.*, 1986)。雄プラティでは 11KT の反復投与により早熟し、精巣が成熟する (Schreibman *et al.*, 1986)。未熟な雄のアフリカナマズでは、長期間の 11KT またはその前駆体投与によって精子形成が起こり精巣の大きさも増加する (Cavaco *et al.*, 1998)。ヨーロッパスズキでは、長期間のテストステロンの持続的投与により、精子形成が進行するが、精巣は大きくならない (Zanuy *et al.*, 1999)。これらの報告に見られるように雄では性ステロイドホルモン (雄性ホルモン) の投与は初回成熟に促進的に働く。しかし雌ではこのような報告は見当たらない。このことは魚類における雌雄の配偶子形成機構の違いを反映しており、実用的には雌の成熟誘起が雄より難しい場合が多いという問題につながる。

いくつかの魚種で GTH が、初回成熟を誘起することが知られている。ニホンウナギの成熟誘起は、特筆すべき一例である。ウナギは飼育下では雌雄ともに性成熟のごく初期 (この総説の定義に基づけば初回成熟開始前) の状態にとどまる。このような雌ウナギに対しシロサケ脳下垂体の抽出液を反復投与すると初回成熟を誘起できる (詳細は他の総説 (Ohta *et al.*, 1997) を参照)。シロサケ脳下垂体には LH, FSH が含まれておりどちらがより重要なのかはよくわかっていない。

GnRH およびその効果を高めたアナログは卵黄形成を終了した魚に対して卵成熟・排卵誘起に有効であることが知られている (Zohar and Mylonas, 2001)。未熟な魚に投与した場合には初回成熟を誘起できない場合が多い (Crim and Evans, 1983; Dufour *et al.*, 1991)。この理由としては以下の 3 つが考えられる。1) 脳下垂体からの GTH 放出に対するドーパミンなどの抑制がかかっている。2) 脳下垂体の GnRH 受容体が未発達。3) GnRH が FSH の放出を促進しない場合がある。どの理由が当てはまるのかは、魚種や魚の年齢 (発達程度) による。ヨーロッパウナギの場合は、ドーパミンの抑制が強く、そのためドーパミンの拮抗剤と GnRH およびステロイドを同時に投与することにより卵成熟を誘起できるとの報告がある (Vidal *et al.*, 2004)。一方マダイは GnRH の単独投与で初回成熟を誘起・完了させることができる魚種である。生後 16 ヶ月の幼魚に対し GnRH アナログのコレステロールペレットを 1 回埋め込むだけで、卵黄蓄積、卵成熟および排卵のすべての過程を誘起できる (Kumakura *et al.*, 2003)。マダイの雌の場合には卵形成において LH が重要で FSH の関与は少ないと考えられている (Gen *et al.*,

2000)。このことがマダイをGnRHのみで成熟させることが可能な理由のひとつと思われる。他の魚種、たとえばサケ科魚ではFSHがあまりGnRHに反応しない(Breton *et al.*, 1998) のでうまくいかない。今後FSHの分泌制御に関する研究の進展が期待される。

初回成熟の開始に関与する脳-脳下垂体-生殖腺軸の発達

アオウオ (*Mylopharyngodon piceus*) は性成熟年齢に達するのが遅く、初回成熟まで6-7年かかる。この魚種では、2-3才魚はGnRHにもGTHにも反応しない。ところが4才になるとこれらの刺激に反応するようになる。2-3才魚では脳下垂体のGnRH受容体および生殖腺のGTH受容体が未発達であることがこの理由と考えられている(Gur *et al.*, 2000)。この魚では脳下垂体と生殖腺の発達が同時におこるようであるが、他の魚種ではどうなっているだろうか。この疑問に答えるため、熊倉らはマダイを用いて詳細な実験を行った。生後12ヵ月のマダイ幼魚にGnRHアナログコレステロールベレットを投与すると脳下垂体中のLHβサブユニットのメッセンジャーRNA量が増加し血液中のLH濃度も上昇する。しかしながら生殖腺はLHに反応せず卵黄形成は始まらない(Kumakura *et al.*, 2004)。ところが前述のように生後16ヵ月のマダイに同様の処理をした場合には卵黄形成、卵成熟、排卵が起こる。これらの実験はマダイの通常の産卵期に行っており、12ヵ月および16ヵ月の幼魚はホルモン処理なしに自発的に成熟することは無い。つまりこの時期の幼魚は性成熟・産卵に好適な環境条件にも反応することは無い。このことは環境因子からのポジティブな情報が中枢神経系のどこかでブロックされていることを意味する。ここでもこの中枢における障害は、環境からGnRH放出にいたる経路が未発達である場合と積極的に抑制されている場合の2通りの可能性があるが、今回のマダイ幼魚の場合は前者のケースではないかと考えられる。さてこれまで見てきたマダイの例をまとめてみたい。マダイの初回成熟に向けての発達ステージは以下の4段階に分けることが出来る。

- 1) 脳-脳下垂体-生殖腺のすべてが未発達な段階。
- 2) 脳下垂体のみが準備を完了した段階(12ヵ月齢のマダイ幼魚)
- 3) 脳下垂体と生殖腺の準備が完了した段階(16ヵ月のマダイ幼魚)
- 4) すべての準備が完了した段階

マダイの場合においても、それぞれの段階が正確にいつからいつまでか(年齢ないし大きさ)はわかってい

ない。このことも重要な課題であるが、それぞれの段階の生理学的な特徴および次の段階に進むための要因の特定がさらに重要である。

脳-脳下垂体-生殖腺軸の発達過程は魚種により異なるものと考えられる。例えば雄のヒメマスでは人工的な短日条件により視床下部と脳下垂体中のGnRH含量および脳下垂体中のFSHβサブユニットの含量が増加するが、精巣は成熟しない(Amano *et al.*, 1997b)。このことはマダイとは異なりヒメマスでは脳の準備が生殖腺よりも早く整うことを意味している。同様にある種の魚種で成熟年齢前に見られる不完全な成熟(脳のGnRHや脳下垂体のGTHは上昇するのに成熟しない)も生殖腺よりも脳のシステムが早く成熟することを示唆している。

今後の展望

初回成熟機構の解明に関する今後の課題として少なくとも以下の5つがあげられる。

- 1) GnRH制御系に関する研究
- 2) GnRHの分泌動態の解明
- 3) サケ科魚類以外におけるFSHの測定系の開発とそれを利用した分泌動態の解明
- 4) 脳-脳下垂体-生殖腺の発達過程の詳細およびその制御(ホルモン受容体の関与など)
- 5) 初回成熟における雌雄差の解明

特に1)に関しては最近哺乳類においてkisspeptinという神経ペプチドおよびその受容体であるGPR54がGnRH分泌に特異的に働き、かつ初回成熟に重要な働きをしていることが明らかになってきた。遺伝的にG protein-coupled receptor (GPR54) を欠くヒトおよびマウスでは成熟が起こらない(Seminara *et al.*, 2003; Colledge, 2004)。またGPR54はGnRHニューロンに存在しkisspeptinがGPR54を介して直接GnRH分泌を促進することも明らかになってきた(Messenger *et al.*, 2005)。今後、魚類におけるkisspeptin-GPR54システムの研究は急務となろう。

謝 辞

ともにマダイの研究を行った宮崎大学香川浩彦博士、養殖研究所玄浩一郎博士、熊倉直樹博士および山口園子博士に深謝する。またシンポジウムを企画され原稿の執筆を勧めてくださった中央水産研究所清水昭男博士にお礼申し上げる。

要 旨

初回成熟ないし春機発動期（思春期）の到来（Puberty）とは、動物がその一生の中で初めて生殖能力を獲得する過程である。魚類の初回成熟機構の理解およびその制御技術の開発は、基礎生物学上の重要性にとどまらず、水産増養殖への応用にとっても非常に重要である。さらには漁業資源管理のために必要な基礎的な情報としても有用と思われる。本総説では魚類における初回成熟研究の現状として、魚類の初回成熟過程における脳-脳下垂体-生殖腺軸の変化、初回成熟を調節する因子、初回成熟の人為制御、初回成熟の開始に関与する脳-脳下垂体-生殖腺軸の発達について紹介し、最後に今後の課題、展望を述べる。

キーワード：初回成熟，生殖腺刺激ホルモン，GnRH，ゴナドトロピン，LH，FSH，ステロイド

文 献

- 天野勝文, 2006: 魚類の性成熟と生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH). 水研センター研報, 別冊第4号, 71-73.
- Amano M., Aida K., Okumoto N., and Hasegawa Y., 1992: Changes in salmon GnRH and chicken GnRH-II contents in the brain and pituitary, and GTH contents in the pituitary in female masu salmon, *Oncorhynchus masou*, from hatching through ovulation. *Zool. Sci.*, **9**, 375-386.
- Amano M., Aida K., Okumoto N., and Hasegawa Y., 1993: Changes in levels of GnRH in the brain and pituitary and GTH in the pituitary in male masu salmon, *Oncorhynchus masou*, from hatching to maturation. *Fish Physiol. Biochem.*, **11**, 233-240.
- Amano M., Hyodo S., Urano A., Okumoto N., Kitamura S., Ikuta K., Suzuki Y., and Aida K., 1994a: Activation of salmon gonadotropin-releasing hormone synthesis by 17 α -methyltestosterone administration in yearling masu salmon, *Oncorhynchus masou*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **95**, 374-380.
- Amano M., Okumoto N., Kitamura S., Ikuta K., Suzuki Y., and Aida K., 1994b: Salmon gonadotropin-releasing hormone and gonadotropin are involved in precocious maturation induced by photoperiod manipulation in underyearling male masu salmon, *Oncorhynchus masou*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **95**, 368-373.
- Amano M., Hyodo S., Kitamura S., Ikuta K., Suzuki Y., Urano A., and Aida K., 1995a: Salmon GnRH synthesis in the preoptic area and the ventral telencephalon is activated during gonadal maturation in female masu salmon. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **99**, 13-21.
- Amano M., Hyodo S., Kitamura S., Ikuta K., Suzuki Y., Urano A., and Aida K., 1995b: Short photoperiod accelerates preoptic and ventral telencephalic salmon GnRH synthesis and precocious maturation in underyearling male masu salmon. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **99**, 22-27.
- Amano M., Kitamura S., Ikuta K., Suzuki Y., and Aida K., 1997a: Activation of salmon GnRH mRNA expression prior to differentiation of precocious males in masu salmon. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **105**, 365-371.
- Amano M., Okumoto N., and Aida K., 1997b: Incomplete development of the brain-pituitary-gonadal axis may underlie the delay in the initiation of precocious maturation in male sockeye salmon. *Fish. Sci.*, **63**, 873-876.
- Baker D.M., Davies B., Dickhoff W.W., and Swanson P., 2000a: Insulin-like growth factor I increases follicle-stimulating hormone (FSH) content and gonadotropin-releasing hormone-stimulated FSH release from coho salmon pituitary cells *in vitro*. *Biol. Reprod.*, **63**, 865-871.
- Baker D.M., Larsen D.A., Swanson P., and Dickhoff W.W., 2000b: Long-term peripheral treatment of immature coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) with human leptin has no clear physiologic effect. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **118**, 134-138.
- Beckman B.R., Larsen D.A., Moriyama S., Lee-Pawlak B., and Dickhoff W.W., 1998: Insulin-like growth factor-I and environmental modulation of growth during smoltification of spring chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Gen. Comp. Endocrinol.*, **109**, 325-335.
- Beckman B.R., Shearer K.D., Cooper K.A., and Dickhoff W.W., 2001: Relationship of insulin-like growth factor-I and insulin to size and adiposity of under-yearling chinook salmon. *Comp. Biochem. Physiol.*, **129**, 585-593.

- Breton B., Govoroun M., and Mikolajczyk T., 1998: GTH I and GTH II secretion profiles during the reproductive cycle in female rainbow trout: Relationship with pituitary responsiveness to GnRH-A stimulation. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **111**, 38-50.
- Bromage N., 1987. The advancement of puberty or time of first-spawning in female rainbow trout (*Salmo gairdneri*) maintained on altered-season light cycles. *Proceedings of The Third International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish*, Memorial University of Newfoundland, St. John's, Newfoundland, Canada.
- Campbell B., Dickey J.T., and Swanson P., 2003: Endocrine changes during onset of puberty in male spring Chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha*. *Biol. Reprod.*, **69**, 2109-2117.
- Cavaco J.E.B., Vilroix C., Trudeau V.L., Schulz R.W., and Goos H.J.T., 1998: Sex steroids and the initiation of puberty in male African catfish (*Clarias gariepinus*). *Am. J. Physiol.*, **275**, R1793-R1802.
- Colledge W.H., 2004: GPR54 and puberty. *Trends. Endocrinol. Metab.*, **15**, 448-453.
- Crim L.W. and Evans D.M., 1983: Influence of testosterone and/or luteinizing hormone releasing hormone analogue on precocious sexual development in the juvenile rainbow trout. *Biol. Reprod.*, **29**, 137-142.
- Dubois E.A., Florijn M.A., Zandbergen M.A., Peute J., and Goos H.J.T., 1998: Testosterone accelerates the development of the catfish GnRH system in the brain of immature African catfish (*Clarias gariepinus*). *Gen. Comp. Endocrinol.*, **112**, 383-393.
- Dubois E.A., Slob S., Zandbergen M.A., Peute J., and Goos H.J.T., 2001: Gonadal steroids and the maturation of the species-specific gonadotropin-releasing hormone system in brain and pituitary of the male African catfish (*Clarias gariepinus*). *Comp. Biochem. Physiol.*, **129B**, 381-387.
- Dufour S., Bassompierre M., Montero M., Le Belle N., Baloché S., and Fontaine Y.A., 1991. Stimulation of pituitary gonadotropic function in female silver eel treated by a gonadoliberin agonist and dopamine antagonists. The Fourth International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish, Sheffield, UK, FishSymp 91.
- Dufour S., Huang Y.S., Rousseau K., Sbaihi M., Le Belle N., Vidal B., Marchelidon J., Querat B., Burzawa-Gerard E., Chang C.F., and Schmitz M., 1999. Puberty in teleosts: new insights into the role of peripheral signals in the stimulation of pituitary gonadotropins. *Proceedings of The 6th International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish*, Bergen, Norway.
- Foster D.L., 1994. Puberty in the sheep. in "The Physiology of Reproduction, Second Edition" (eds. by Knobil E. and Neill J.D.), Raven Press, New York, **2**, pp. 411-451.
- Friedman J.M. and Halaas J.L., 1998: Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature*, **395**, 763-770.
- Ge W., 2000: Roles of the activin regulatory system in fish reproduction. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **78**, 1077-1085.
- Gen K., Okuzawa K., Senthilkumaran B., Tanaka H., Moriyama S., and Kagawa H., 2000: Unique expression of gonadotropin-I and -II subunit genes in male and female red seabream (*Pagrus major*) during sexual maturation. *Biol. Reprod.*, **63**, 308-319.
- Goos H.J.T., de Leeuw R., Cook H., and van Oordt P.G.W.J., 1986: Gonadotropic hormone-releasing hormone (GnRH) bioactivity in the brain of the immature rainbow trout, *Salmo gairdneri*: the effect of testosterone. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **64**, 80-84.
- Goos H.J.T., 1993. Pubertal development: big questions, small answers. in "Cellular Communication in Reproduction" (eds. Facchinetti F., Henderson I.W., Pierantoni R. and Polzonetti-Magni A.M.), Journal of Endocrinology Ltd, Bristol, UK, 11-20.
- Gur G., Melamed P., Gissis A., and Yaron Z., 2000: Changes along the pituitary-gonadal axis during maturation of the black carp, *Mylopharyngodon piceus*. *J. Exp. Zool.*, **286**, 405-413.
- Hansen T., Karlsen Ø., Taranger G.L., Hemre G.-I., Holm J.C., and Kjesbu O.S., 2001: Growth, gonadal development and spawning time of Atlantic cod (*Gadus morhua*) reared under different photoperiods. *Aquaculture*, **203**, 51-67.

- Hassin S., Holland M.C.H., and Zohar Y., 1999: Ontogeny of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone gene expression during pubertal development in the female striped bass, *Morone saxatilis* (Teleostei). *Biol. Reprod.*, **61**, 1608-1615.
- Hassin S., Holland M.C.H., and Zohar Y., 2000: Early maturity in the male striped bass, *Morone saxatilis*: follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone gene expression and their regulation by gonadotropin-releasing hormone analogue and testosterone. *Biol. Reprod.*, **63**, 1691-1697.
- Hopkins C.L. and Unwin M.J., 1997: The effect of restricted springtime feeding on growth and maturation of freshwater-reared chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha* (Walbaum). *Aquac. Res.*, **28**, 545-549.
- Huang Y.-S., Rousseau K., Le Belle N., Vidal B., Burzawa-Gerard E., Marchelidon J., and Dufour S., 1998: Insulin-like growth factor-I stimulates gonadotrophin production from eel pituitary cells: a possible metabolic signal for induction of puberty. *J. Endocrinol.*, **159**, 43-52.
- Huggard D., Khakoo Z., Kassam G., Mahmoud S.S., and Habibi H.R., 1996: Effect of testosterone on maturational gonadotropin subunit messenger ribonucleic acid levels in the goldfish pituitary. *Biol. Reprod.*, **54**, 1184-1191.
- Imsland A.K., Folkvord A., Jonsdottir O.D.B., and Stefansson S.O., 1997: Effects of exposure to extended photoperiods during the first winter on long-term growth and age at first maturity in turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture*, **159**, 125-141.
- Kumakura N., Okuzawa K., Gen K., and Kagawa H., 2003: Effects of gonadotropin-releasing hormone agonist and dopamine antagonist on hypothalamus-pituitary-gonadal axis of pre-pubertal female red seabream (*Pagrus major*). *Gen. Comp. Endocrinol.*, **131**, 264-273.
- Kumakura N., Okuzawa K., Gen K., Yamaguchi S., Lim B.S., and Kagawa H., 2004: Effects of gonadotropin-releasing hormone on pituitary-ovarian axis of one-year old pre-pubertal red seabream. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **138**, 105-112.
- Kurokawa T., Uji S. and Suzuki T., 2005: Identification of cDNA coding for a homologue to mammalian leptin from pufferfish, *Takifugu rubripes*. *Peptides*, **26**, 745-750.
- Lam T.J., 1983: Environmental influences on gonadal activity in fish. in "Fish Physiology" (eds. Hoar W.S., Randall D.J. and Donaldson E.M.). Academic Press. New York/London, IX, Reproduction Part B, 65-116.
- Le Gac F., Gomez J.M., Fostier A., Weil C., and Le Bail P.Y., 2000: Changes in plasma levels of IGF-I and IGF-II, and in testicular IGF-I and II mRNA during the first gonadal maturation in rainbow trout. *Proceedings of The 6th International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish*, Bergen.
- Mateos J., Mananos E., Carrillo M., and Zanuy S., 2002: Regulation of follicle-stimulating hormone (FSH) and luteinizing hormone (LH) gene expression by gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and sexual steroids in the Mediterranean Sea bass. *Comp. Biochem. Physiol.*, **132B**, 75-86.
- Messenger S., Chatzidaki E.E., Ma D., Hendrick A.G., Zahn D., Dixon J., Thresher R.R., Malinge I., Lomet D., Carlton M.B., Colledge W.H., Caraty A., and Aparicio S.A., 2005: Kisspeptin directly stimulates gonadotropin-releasing hormone release via G protein-coupled receptor 54. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, **102**, 1761-1766.
- Montero M., Le Belle N., King J.A., Millar R.P., and Dufour S., 1995: Differential regulation of the two forms of gonadotropin-releasing hormone (mGnRH and cGnRH-II) by sex steroids in the European female silver eel (*Anguilla anguilla*). *Neuroendocrinol.*, **61**, 525-535.
- Moriyama S., Shimma H., Tagawa M., and Kagawa H., 1997: Changes in plasma insulin-like growth factor-I levels in the precociously maturing amago salmon, *Oncorhynchus masou ishikawai*. *Fish Physiol. Biochem.*, **17**, 253-259.
- Ohta H., Kagawa H., Tanaka H., Okuzawa K., Iinuma N., and Hirose K., 1997: Artificial induction of maturation and fertilization in the Japanese eel, *Anguilla japonica*. *Fish Physiol. Biochem.*, **17**, 163-169.
- Ojeda S.R. and Urbanski H.F., 1994: Puberty in the rat. in "The Physiology of Reproduction, Second

- Edition" (eds. Knobil E. and Neill. J.D), Raven Press., New York, **2**, 363-409.
- Okuzawa K. and Kobayashi M., 1999: Gonadotropin-releasing hormone neuronal systems in the teleostean brain and functional significance. in "Neural Regulation in the Vertebrate Endocrine System" (eds. Prasada Rao P.D. and Peter R.E.), Kluwer Academic/ Plenum Publishers, New York, 85-100.
- Okuzawa K., Kumakura N., Mori A., Gen K., Yamaguchi S., and Kagawa H., 2002: Regulation of GnRH and its receptor in a teleost, red seabream. in "Gonadotropin-Releasing Hormone: Molecules and Receptors" (eds. Parhar I. S.), Elsevier, Amsterdam, **141**, 95-110.
- Okuzawa K., Gen K., Bruysters M., Bogerd J., Gothilf Y., Zohar Y., and Kagawa H., 2003: Seasonal variation of the three native gonadotropin-releasing hormone messenger ribonucleic acids levels in the brain of female red seabream. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **130**, 324-332.
- Parhar I.S., Soga T., and Sakuma Y., 2000: Thyroid hormone and estrogen regulate brain region-specific messenger ribonucleic acids encoding three gonadotropin-releasing hormone genes in sexually immature male fish, *Oreochromis niloticus*. *Endocrinology*, **141**, 1618-1626.
- Peyon P., Zanuy S., and Carrillo M., 2001: Action of leptin on *in vitro* luteinizing hormone release in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Biol. Reprod.*, **65**, 1573-1578.
- Rodriguez L., Carrillo M., Sorbera L.A., Soubrier M.A., Mananos E., Holland M.C.H., Zohar Y., and Zanuy S., 2000: Pituitary levels of three forms of GnRH in the male European sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.) during sex differentiation and first spawning season. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **120**, 67-74.
- Rowe D.K., Thorpe J.E., and Shanks A.M., 1991: Role of fat stores in the maturation of male Atlantic salmon (*Salmo salar*) parr. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **48**, 405-413.
- Schreibman M.P., Margolis-Nunno H., Halpern-Sebold L.R., Goos H.J.T., and Perlman P.W., 1986: The influence of androgen administration on the structure and function of the brain-pituitary-gonad axis of sexually immature platyfish, *Xiphophorus maculatus*. *Cell Tissue Res.*, **245**, 519-524.
- Schulz R.W., and Goos H.J.T., 1999: Puberty in male fish: concepts and recent developments with special reference to the African catfish (*Clarias gariepinus*). *Aquaculture*, **177**, 5-12.
- Seminara S.B., Messenger S., Chatzidaki E.E., Thresher R.R., Acierio J.S., Jr., Shagoury J.K., Bo-Abbas Y., Kuohung W., Schwinof K.M., Hendrick A.G., Zahn D., Dixon J., Kaiser U.B., Slaugenhaupt S.A., Gusella J.F., O'Rahilly S., Carlton M.B., Crowley W.F., Jr., Aparicio S.A., and Colledge W.H., 2003: The GPR54 gene as a regulator of puberty. *N. Engl. J. Med.*, **349**, 1614-1627.
- Senthilkumaran B., Okuzawa K., Gen K., Ookura T., and Kagawa H., 1999: Distribution and seasonal variations in levels of three native GnRHs in the brain and pituitary of perciform fish. *J. Neuroendocrinol.*, **11**, 181-186.
- Shearer K.D., and Swanson P., 2000: The effect of whole body lipid on early sexual maturation of 1+ age male chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Aquaculture*, **190**, 343-367.
- 清水昭男, 2006: 魚類の生殖周期と水温等環境条件との関係. 水研センター研報, 別冊第4号, 1-12.
- Swanson P., 1991. Salmon gonadotropins: reconciling old and new ideas. *Proceedings of the 4th International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish*, Norwich, FishSymp 91.
- Vidal B., Pasqualini C., Le Belle N., Holland M.C., Sbailhi M., Vernier P., Zohar Y., and Dufour S., 2004: Dopamine inhibits luteinizing hormone synthesis and release in the juvenile European eel: a neuroendocrine lock for the onset of puberty. *Biol. Reprod.*, **71**, 1491-1500.
- Weil C., Carre F., Blaise O., Breton B., and Le Bail P.-Y., 1999: Differential effect of insulin-like growth factor I on *in vitro* gonadotropin (I and II) and growth hormone secretions in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) at different stages of the reproductive cycle. *Endocrinology*, **140**, 2054-2062.
- Weil C., Le Bail P.Y., Sabin N., and Le Gac F., 2003: *In vitro* action of leptin on FSH and LH production in rainbow trout (*Onchorynchus mykiss*) at different stages of the sexual cycle. *Gen. Comp.*

- Endocrinol.*, **130**, 2-12.
- Zanuy S., Carrillo M., Mateos J., Trudeau V., and Kah O., 1999: Effects of sustained administration of testosterone in pre-pubertal sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Aquaculture*, **177**, 21-35.
- Zanuy S., Carrillo M., Felip A., Rodriguez L., Blazquez M., Ramos J., and Piferrer F., 2001: Genetic, hormonal and environmental approaches for the control of reproduction in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Aquaculture*, **202**, 187-203.
- Zohar Y. and Mylonas C.C., 2001: Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. *Aquaculture*, **197**, 99-136.

野外調査と飼育実験を併用した魚類の繁殖特性研究

栗田 豊*

Procedures to Estimate Reproductive Traits of Fish by Combining Field Surveys and Tank Experiments

Yutaka KURITA*

Abstract Problems in examining reproductive traits of fish species by field surveys and the advantages of tank experiments were reviewed. Required tank experiments differ due to the maturation-spawning type of the studied fish. For asynchronously maturing species which spawn many batches in a spawning season, rate of degeneration of postovulatory follicles (POF) in relation to temperature, diel changes in both final maturation and spawning, and the stage of spawning are required to be clarified by tank experiments. While for group-synchronously maturing species which spawn one or several batches, oocyte growth rate and the duration of atresia both in relation to temperature are required to be clarified by tank experiments. Effects of ration size and feeding period on the number of spawning eggs are also important issues to be examined. While tank experiments are very useful methods, they have risks of producing biased results because of the artificial environment and food. Thus, field surveys and tank experiments should be concurrently carried out to allow comparison and validation of results.

Key words: reproductive traits, field survey, tank experiment, maturation pattern, spawning pattern

魚類の生活史特性は、変動する生物・非生物的環境の影響を受けて常に変動している。したがって生活史を研究するうえで、まず特性値を正確に評価すること、次に特性値を長期的に評価し変動要因を特定すること、さらに要因の影響を定量的に評価することが重要である。たとえば繁殖特性に関しては、産卵期、産卵場、産卵数、卵径、卵質などが、個体群動態に影響を及ぼす可能性がある、研究すべき重要な特性である。これらの特性値の正確な評価ならびに変動要因の解明は、野外調査によって行うのが基本である。しかし野外調査には様々なバイアスや情報の曖昧さが含まれるので、特性値の正確な評価すら十分には行えないことがある。これらの野外調査に付随する問題を補うために、飼育実験は非常に有力な手段である。飼育実験では、特定

の環境（例えば水温）のみを変化させてその影響を抽出できる、標本が経験した環境履歴が把握できる、計画的かつ安定的に標本を採集できる、同一個体の特性値の時系列変化が得られるなどの利点がある。これらの特徴は野外調査では得ることが極めて困難である。一方、飼育実験自体の人為的環境が魚に何らかの影響を及ぼすと考えられるので、得られた結果がそのまま野外における魚の生態に適用できるかどうかは不明である。このことから、生活史特性の研究は、野外調査と飼育実験の結果を常に対比させ、お互いを補い合いながら展開することが望ましい。本報告では、野外調査と飼育実験の相補的な併用の一つのあり方を示すために、繁殖特性およびその変動に関する野外調査の研究例および問題点を示し、問題解決のために必要な飼

育実験の例を紹介した。

成熟・産卵様式

繁殖特性値の調査研究手法は、対象とする魚種の成熟・産卵様式によって異なる。例えば年1回産卵型の魚種においては、産卵期や産卵数は成熟開始前から産卵期にかけての長期間にわたる水温や餌料環境の影響を受ける可能性があるため、成熟開始前の適当な時期から成熟期間を通して一定間隔で卵母細胞径や孕卵数 (potential fecundity) を調べる必要がある。一方、一産卵期に多数回産卵する (バッチ産卵型) 魚種においては、産卵回数や産卵数は産卵期中の餌料環境や水温に大きく影響されると考えらる。このような魚種の場合、バッチ産卵数 (1回の産卵における産卵数)、産卵頻度、環境などについて、産卵期中に頻繁に調査を行う必要がある。したがって繁殖特性の研究ではまず、研究対象とする魚種の成熟・産卵様式を特定することが非常に重要である。

成熟・産卵様式は、一般的に、同期発達型 (synchronous)、卵群同期発達型 (group-synchronous)、非同期発達型 (asynchronous) (Marza, 1938; Wallace and Selman, 1981; 高野, 1989) に分類される。このうち同期発達型は多くのサケ属魚類のように一生に1回だけ産卵する型である。卵群同期発達型は卵黄を蓄積している卵母細胞群と卵黄を蓄積しない卵母細胞群 (翌年または次の産卵期に成熟する) の少なくとも2つの明瞭な細胞群が認められ、一生に複数回産卵する型である。この型には1産卵期に1回産卵 (しかし生涯で複数回産卵) するタイプと、1産卵期に複数回産卵するタイプがある。非同期発達型は卵黄を蓄積している卵母細胞と蓄積していない卵母細胞の細胞径に明瞭なギャップが存在せず、産卵期中にも常時卵黄蓄積を開始する細胞が出現する型である。この型には比較的長期にわたり多数回産卵する魚種が含まれる。本論文では、研究手法の相違を考慮し、卵群同期発達型を1産卵期1回産卵型 (ニシン *Clupea harengus* など)、1産卵期複数回産卵型 (大西洋タラ *Gadus morhua*, スケトウダラ *Theragra chalcogramma* など) に区分した。これに非同期発達型 (1産卵期多数回産卵型, サンマ *Cololabis saira*, マサバ *Scomber japonicus*, カタクチイワシ *Engraulis japonica*, ヒラメ *Paralichthys olivaceus* など) を加えた3つの型について、成熟・産卵様式、および繁殖特性値に対する環境の影響の仕方を以下に述べる。

I) 卵群同期発達型—1産卵期1回産卵型 (タイプI; Fig. 1a)

成熟し産卵に至る卵母細胞が、卵黄を蓄積しない細胞 (pre-vitellogenic oocytes) から独立して成長する。成熟過程における水温、体重などが卵母細胞の成長速度に影響し (大西洋ニシン *Clupea harengus*, Ware and Tanasichuk, 1989)、産卵日は主に成熟開始時期、卵母細胞の成長速度、最終成熟 (核移動〜吸水完了) を開始する卵母細胞径で決定される。大西洋ニシンでは成熟を開始した卵母細胞の一部が成熟過程で再吸収され、実際の産卵数は個体の栄養状態に応じて調節される (Kurita *et al.*, 2003)。

II) 卵群同期発達型—1産卵期複数回産卵型 (タイプII; Fig. 1b)

成熟し産卵に至る卵母細胞が、卵黄を蓄積しない細胞から独立してある程度成長し (卵黄蓄積卵母細胞, vitellogenic oocytes)、さらにその一部が最終成熟に至り [吸水卵母細胞 hydrated oocytes; ただし顕著な吸水が起こる魚種のみ] に適用できる用語、清水 (2006) 参照] 産卵される。産卵は1産卵期に複数回認められる。成熟を開始して独立した卵母細胞群が形成された時以降に、卵黄を蓄積していない卵母細胞群から卵黄を蓄積している卵母細胞群への加入はない。つまり成熟初期に産卵数の最大値が決定する。卵群の卵母細胞成長速度は成熟過程における水温に影響される (大西洋タラ, Kjesbu, 1994) ため、産卵期は水温の影響を受けて変動する。また、産卵数は水温や栄養状態の影響を受けて変動する (大西洋タラ, Kjesbu *et al.*, 1998)。さらに、バッチ産卵数、卵径、産卵間隔が産卵の進行に伴い変化する (大西洋タラ, Kjesbu *et al.*, 1991; 1996)。

III) 非同期発達型—1産卵期多数回産卵型 (タイプIII; Fig. 1c)

産卵期中継続的に、卵黄を蓄積しない細胞から卵黄蓄積細胞への加入がある。卵黄を蓄積している細胞の一部が最終成熟に至り産卵する過程を繰り返す。産卵回数 (産卵間隔) およびバッチ産卵数から総産卵数を推定する。これらの特性値は産卵期中の水温や餌料環境 (カタクチイワシ, 鶴田, 1992) によって変化する。また、産卵間隔の推定には、生殖日周期や排卵後濾胞 (postovulatory follicles; POF) の吸収過程などと水温の関係を把握する必要がある。

水産資源学における繁殖特性研究は、特性値を正確に評価する、特性値の変動要因を特定する、変動要因の影響を定量的に評価する、という順に高度化していく。以下に、繁殖特性研究を行う際の野外調査における問題点と、それを解決するために必要とされる飼育実験を、特性値を正確に評価することと、変動要因を特定しその影響を評価することに大別して述べる。前

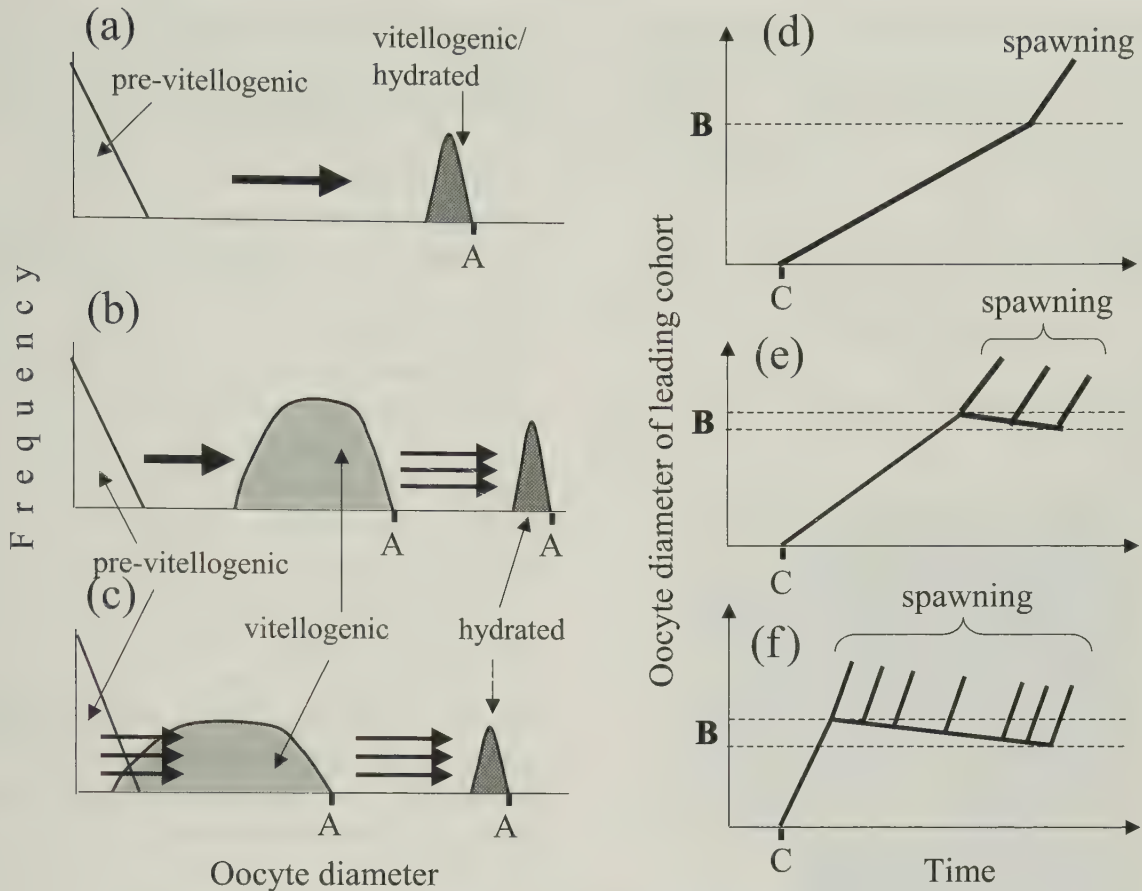


Fig. 1. Three patterns of oocyte maturation and spawning. (a) - (c) Size frequency of oocytes; (d) - (f) temporal changes in oocyte diameter in the leading cohorts. (a), (d) Group-synchronous and spawning a single batch in a spawning season; (b), (e), group-synchronous and spawning several batches in a spawning season; (c), (f), asynchronous and spawning many batches in a spawning season. A, diameter of oocytes in leading cohorts; B, diameter of oocytes at the beginning of final maturation; C, time at the beginning of oocyte maturation.

者は比較的短期間の飼育実験で遂行可能であるのに対して、後者は比較的長期間の飼育実験が必要である。

繁殖特性値を正確に評価するために行う野外調査の問題点と必要な飼育実験

1) 野外調査の設計をよく練る

繁殖特性の研究に限らず、個体群の生物特性を明らかにする際に個体群を代表するサンプリングを行うように注意を払うことは非常に重要である。繁殖特性に関しても、産卵群と非産卵群の分布の違い、産卵群の中でも当日産卵群と当日非産卵群の分布や採集効率の違いを正確に把握する必要がある（例えばnorthern anchovy *Engraulis mordax*, Picquelle and Stauffer, 1985）。また、産卵時刻に何らかの偏りがある場合は、採集時刻を考慮する必要がある。さらに、上述のとおり、調査対象魚種の成熟・産卵様式によって調査時期

や頻度を変える必要もある。

2) 繁殖特性値を正確に評価するために必要な情報

a) 排卵後濾胞（POF）の吸収過程と水温の関係

POF (Fig. 2) とは、卵母細胞を包んでいた濾胞組織 [ovarian follicle; 外側の莢膜細胞層 (thecal cell layer), 内側の顆粒膜細胞層 (granulosa cell layer), および両細胞層を隔てる基底膜 (basement membrane) からなる] が排卵によって空胞となった状態である。POFは個体の当該産卵期における産卵経験の有無の指標となる。Hunter and Goldberg (1980) がnorthern anchovyの産卵頻度（単位時間あたりの産卵回数、単位時間を1日とすることが多い）の推定に用いて以来、多くのバッチ産卵型の魚種で産卵頻度の指標として用いられている (northern anchovy, Hunter and Macewicz, 1985; マサバ, Dickerson *et al.*, 1992; Atlantic mackerel *Scomber scombrus*, Priede and Watson, 1993)。Hunter and Goldberg (1980) は

POFの退行過程が時間の経過とともに進行する性質を利用し、POFをその形態から、排卵当日、排卵後1日、排卵後2日以上経過の3タイプに区分した。排卵当日のPOFは複雑に褶曲しており、顆粒膜細胞の細胞壁および細胞内の核が明瞭である。これに対して排卵後1日のPOFは褶曲が少なくなり、顆粒膜細胞には空胞や核の濃縮が多く認められる。排卵後2日以上経過すると大きさが非常に小さくなり、顆粒膜細胞の細胞膜が認められず、空胞や濃縮した核のみが認められる。吸収の過程は多くの魚種で類似しているが、それぞれの状態の持続時間は魚種や環境水温によって異なる。産卵頻度の推定に用いる形質は、POFに限らずその持続時間および出現時刻（あるいは産卵時刻）を明らかにする必要がある（後述c）参照）。例えば、時刻の偏りなく採集した場合、ある形質の持続時間が1/2になれば、その形質が認められる確率も1/2になる。したがって産卵頻度の推定値は、用いる形質の持続時間に比例して変化する。POFの退行過程についてはいくつかの魚種で報告されているが、筆者の知る限りでは、同じ種について異なる水温で退行過程を調べた報告はない。産卵期の水温は、地域によって、また時期によって大きく変化するのが一般的である（羽生, 1991）ので、

POFの吸収過程と水温の関係を明らかにすることは、産卵頻度の推定を正確に行うために必要である。個体群の産卵が狭い時間範囲内で同期して起こる魚種では、野外において3～4時間間隔で24～48時間にわたり連続的に採集することでPOFの退行過程を明らかにできる（Pacific sardine *Sardinops sagax*, Goldberg *et al.*, 1984）。しかし、一般的に個体により産卵時刻がばらつくことや排卵から採集時までの経験水温が不明瞭であることを考慮すると、POFの吸収過程と水温の関係は飼育実験によって明らかにするのが適当である。飼育実験では同期して排卵した個体群から一定の時間間隔で数個体ずつ採集し、排卵後の経過時間とPOFの形態変化を対比させればよい。水温は天然海域で経験すると予想される最低水温、最高水温、その中間の水温の少なくとも3水温で行うことが望ましい。また、カニューレ（Fig. 3に示した細い管、カテーテル）を用いて同一個体の卵巣の一部の抽出（カニューレーション、カテーテライズ）を定期的に行えば、数少ない個体で、しかも排卵時刻の個体差を考慮せずにPOFの形態変化を調査できる。ただしカニューレーションを行う場合は、ハンドリングによる魚体に対するストレスを最小限にとどめる配慮が必要である。

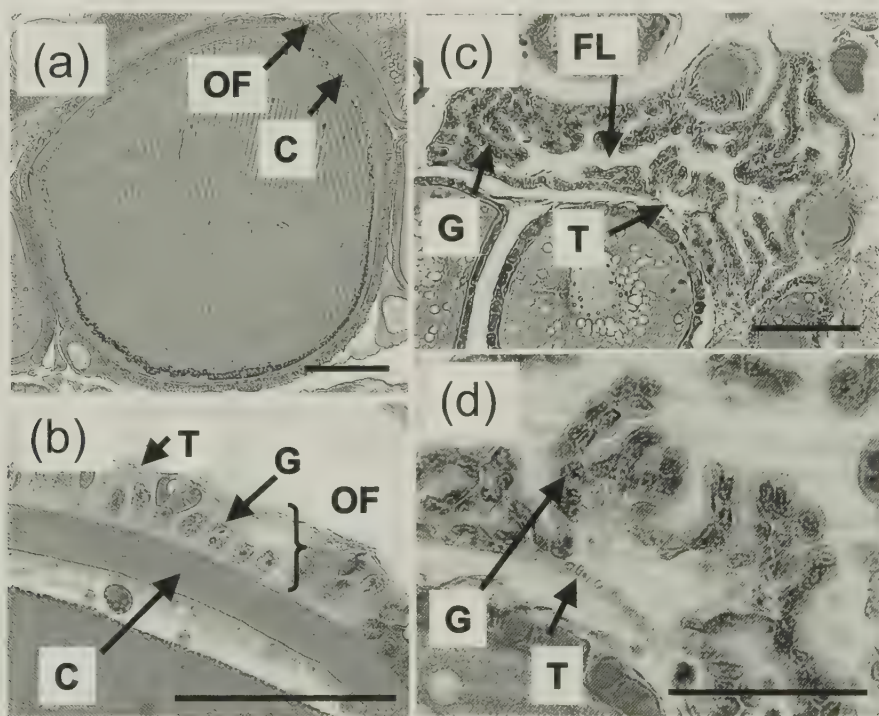


Fig. 2. Ovarian follicle and postovulatory follicle of Pacific saury *Cololabis saira*. (a) Hydrated oocyte surrounded by ovarian follicle (OF). C, chorion. (b) Magnified image of (a). Thecal cell layer (T) and granulosa cell layer (G) of ovarian follicle. (c) Newly evacuated postovulatory follicle. FL, follicular lumen. (d) Magnified image of (c). Cell walls of granulosa cells are evident and nuclei are prominent. Bars in (a) and (c), 200 μ m; in (b) and (d), 100 μ m.

b) 退行卵母細胞 (atresia) の吸収過程と水温の関係

近年いくつかの魚種で、卵黄を蓄積した卵母細胞の一部が、成熟過程および産卵期中に退行卵母細胞 (atresia, Fig. 4) となり産卵せずに再吸収されることが明らかになっている。例えば大西洋ニシン (成熟・産卵タイプ I) では、卵黄を蓄積した卵母細胞の56%が、主に成熟過程の前半にatresiaとして吸収された (Kurita *et al.*, 2003)。また、North Sea sole *Solea solea* (成熟・産卵タイプ III) では12.4%が (Witthames and Greer Walker, 1995), Atlantic mackerel (成熟・産卵タイプ III) では6~13%が (Greer walker *et al.*, 1994), 産卵期中にatresiaとして吸収された。上記成熟・産卵タイプのうち卵群同期発達型 (タイプ I および II) に属する魚種では、産卵前のある時点で計数した卵黄蓄積卵母細胞数 (potential fecundity) を当該産卵期における実際の産卵数 (realized fecundity) とみなすことが多い。しかしatresiaによる再吸収があれば、計数時の孕卵数と実際の産卵数は異なるので、実際の産卵数を推定するためにはatresiaによる再吸収が生じる時期および量を調べる必要がある。atresiaによる再吸収量を推定するためには、正常な卵母細胞に対するatresiaの割合とatresiaの持続時間 (寿命; 卵母細胞の退行の開始から卵黄が完全に吸収されるまでの時間, Fig. 4; Hunter and Macewicz, 1985; Witthames and Greer Walker, 1995) に関する情報が必要である。たとえatresiaの割合が少なくても、atresiaによる再吸収が何回転かすれば、再吸収される卵母細胞の総量は大きくなる。例えば出現割合が3%であっても5

回転すれば、当初の14% $[=1-(1-0.03)^5]$ の卵母細胞が減少する。したがって見かけ上少なくとも、atresiaによる再吸収は実際の産卵量に大きな影響を及ぼす可能性がある。また、atresiaの割合の推定は組織切片の観察によるのが一般的であるが、大きさが異なる細胞を単純に計数すると、数量の比の推定値に偏りが生じるので注意が必要である (後述のstereological method参照)。atresiaの出現は一般的には個体間で同期しないので、出現開始日を野外採集標本から推定するのは不可能である。したがってatresiaの持続時間は飼育実験によって調べるのが適当である。これまで孕卵数の減少量と期間からatresiaの持続時間を推定した

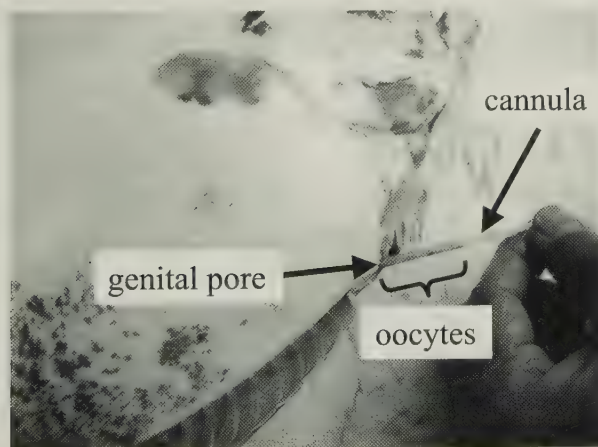


Fig. 3. Taking ovary biopsy samples with a cannula. Temporal changes in ovarian characteristics, for example, oocyte diameter, developmental stages, and degeneration process of both post ovulatory follicles and atresia, can be examined from the same individual.

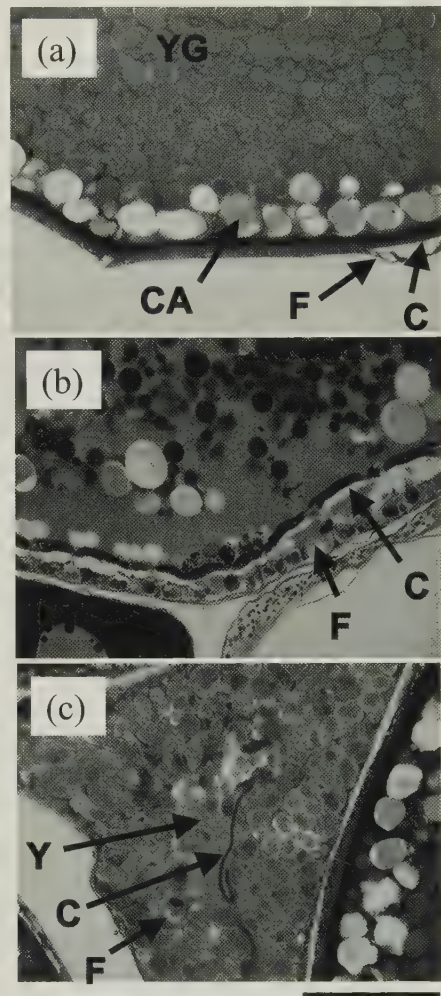


Fig. 4. Normal and atretic oocytes in vitellogenic stage of Atlantic herring *Clupea harengus*. (a) Normal vitellogenic oocyte. YG, yolk globule; CA, cortical alveoli; C, chorion; F, ovarian follicle. (b) A very early phase of atresia. Chorion (C) is fragmented, and follicle cells (F) become enlarged. (c) A late phase of atresia. Little yolk (Y) and chorion (C) remained, and surrounded by follicle cells (F). Bar; 100 μ m.

例はあるが (Kurita *et al.*, 2003), 飼育実験により直接調べた例は少ない。Hunter and Macewicz (1985) は northern anchovy を一定期間絶食することで atresia を生じさせ、定期的な採集によって atresia の吸収過程を観察した。その結果、卵黄を蓄積した卵母細胞が atresia となり卵黄が完全に吸収されるまでに 8 日間かかることを明らかにした。カニュレーションにより同一個体の atresia 持続時間を推定することも可能であろう。POF と同様、atresia も水温によって持続時間が大きく変化する可能性が高いので、飼育実験を行う際は、生息水域の最高、最低、中間の少なくとも 3 水温下で実験を行うことが望ましい。

c) 成熟・産卵過程の日周リズムと水温の関係

1 産卵期に複数回産卵する魚種、特に非同期発達型の魚種で、最終成熟 (核移動～吸水完了) および排卵に関して明瞭な生殖日周期を示すことが報告されている (広瀬, 1991)。なお最終成熟とは第一減数分裂の途中で停止していた卵母細胞の減数分裂が再開し、第二減数分裂中期に至るまでの期間であり、外見的には卵黄球期の卵母細胞の核が移動し、吸水に伴う透明化および核の崩壊を経て排卵に至る一連の過程に対応する (小林と足立, 2002; 清水, 2006)。生殖日周期に関する知見は、産卵頻度の推定、産卵頻度やバッチ産卵数を推定するための調査時刻の決定に必要である。多

くの魚種で用いられている産卵頻度 (間隔) の指標は POF および吸水卵母細胞である。しかしこれらの出現持続時間を正確に調べた例は少ない。

Matsuyama *et al.* (1988) は、海上の生け簀に畜養した天然のマダイ *Pagrus major* を用いて成熟・産卵の日周リズムを明らかにした (Fig. 5a)。マダイは 18～19 時に同期して産卵した。核の移動は 19 時から出現し始め、7 時には核の崩壊が終了し、卵母細胞が透明化した。また、排卵は 13～16 時に起きた。したがって吸水卵母細胞は 4～7 時から 13～16 時の約 9 時間にわたり出現した。また、13～22 時には POF は濾胞腔 (follicular lumen, Fig. 2) を有し顆粒膜細胞の構造も明瞭な状態であった (ステージ I)。1～10 時にはステージ I の POF は認められず、最も新しい POF でも吸収が進み濾胞腔は閉鎖していた (ステージ II)。それ以降は吸収が進行し、24 時間以内に結合組織との識別が困難な状態になった。この日周変化の知見を適用すると、当日産卵する個体は、少なくとも 4～7 時には核移動期以降の卵母細胞を、7～22 時には吸水卵母細胞または排卵後間もないステージ I の POF を、それぞれ持っていることから識別可能である。つまりこれらの細胞の出現を指標とすれば、4～22 時に採集した標本を用いて、産卵頻度の推定を行えるであろう。また、著者の経験では、POF の退行過程は連続的であり吸収

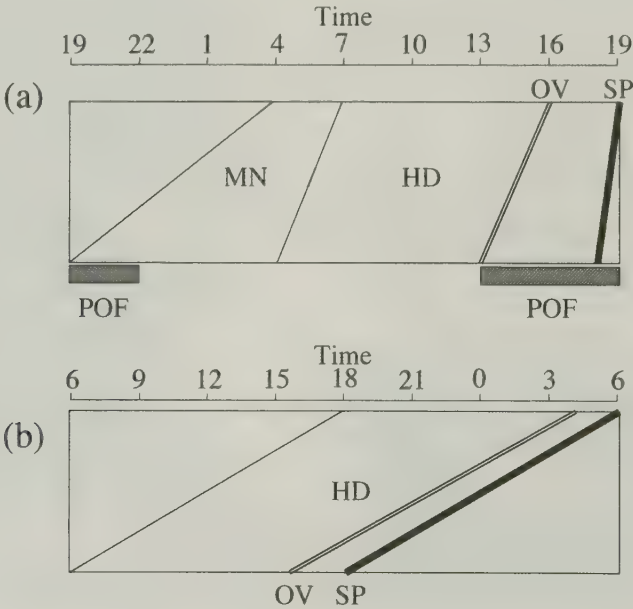


Fig. 5. Diel rhythm of final maturation and spawning in (a) red sea bream *Pagrus major* and (b) Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. Red sea bream spawns synchronously at 18 - 19 h, while Japanese flounder spawns asynchronously during the night. As a result, hydrated oocytes of red sea bream appear in a specific period of time, while those of Japanese flounder appear almost over a 24 hour period. MN, oocytes at migratory nucleus stage; HD, hydrated oocytes; POF, postovulatory follicles at stage I (grey bars); OV, ovulation; SP, spawning.

段階の識別には多少の不明瞭さが含まれる。したがって採集時刻を7～13時に限って、吸水卵母細胞のみを産卵の指標にするか、または7～19時頃までに限って、吸水卵母細胞と排卵直後のステージⅠのPOFを産卵の指標にすることで、より正確に産卵頻度を推定できるであろう。逆に言えば、もしも吸水卵母細胞（およびステージⅠのPOF）のみを指標にして産卵頻度を推定する場合、7～13時（19時頃）以外の標本を含めて推定すると過小推定となる。このように、成熟日周期に関する情報は、精度の高い産卵頻度の推定、あるいは調査設計に不可欠である。

マダイの様に産卵時刻が個体群で同期している場合は、上述のように、吸水卵母細胞やPOFなど特定の形質の特定の時間帯における出現率を利用して、野外個体群の産卵頻度を推定することができる。しかし個体群で産卵時刻が同期していない場合は、生殖日周期およびある形質の持続時間が産卵間隔の推定値に直接影響する。例えばヒラメは飼育下で夕方から早朝にかけて幅広い時間帯で排卵・産卵する（栗田，未発表）。また、吸水卵母細胞の持続時間は水温15℃では約10時間である^{*1}。採集が終日まんべんなく行われれば、当日産卵する個体のうち吸水卵母細胞を持っている個体の出現確率は10/24（持続時間/24時間）である。しかし出現確率は時間帯によって変化する。例えば18～6時に産卵する場合、吸水卵母細胞は6～翌4時に出現する（Fig. 5b；排卵から産卵までの時間が明確になっていないので、ここでは2時間と仮定した）。18～6時の間に魚が均等に産卵すると仮定すると、吸水卵母細胞の出現確率は、4～6時が0、16～18時がほぼ1で最も高くなり、6～16時にかけては直線的に増加し、18～4時にかけては直線的に減少する。さらに産卵時刻の分布に偏りがあると、出現確率はその影響を受けて変化する。このような魚種の産卵頻度を推定する場合、まず産卵の指標となる形質の持続時間を明らかにすることが第一に求められる。さらに排卵時刻の頻度分布を明らかにできる場合は、その頻度分布から推定される特定の形質の出現確率と時刻の関係を予め把握した上で、採集時刻を決定し、形質の出現割合から産卵頻度を推定するのが最良の方法である。排卵時刻の頻度分布が不明の場合は、採集時刻が特定の時間帯に偏らない様にして、あるいは採集時刻の偏りを除去するようにデータを処理して、形質の出現割合から産卵

頻度を推定する方法が次善の方法である。どちらの場合でも、産卵頻度を求める際に、形質の出現割合を出現確率で補正する必要がある。つまり、

$$(\text{産卵頻度}) = (\text{形質の出現割合}) / (\text{形質の出現確率})$$

である。前述のマダイでは形質の出現確率で補正していない。これは特定の形質〔吸水卵母細胞（およびステージⅠのPOF）〕の出現確率が1となる時間帯〔7～13（19）時〕に採集した標本のみを用いる推定方法だったからである（Fig. 5a）。

さらに、産卵の進行に伴う水温や光周期の変化が、産卵に関わる形質の持続時間（例えばヒラメの吸水卵母細胞の持続時間と水温の関係^{*1}）や産卵時刻（羽生1991）を変化させることにも留意する必要がある。産卵時刻の個体間変動が大きい場合、野外調査によって特定の形質の持続時間を推定するのは非常に困難である。このような場合は、飼育実験によって産卵時刻や形質の持続時間と環境の関数に関する基礎情報を得ておくことが望ましい。成熟・産卵の日周変化を調べる目的で行う飼育実験でも、POFの項で述べたのと同様に、生殖日周期に個体間変動が見込まれる場合は、カンニュレーションによって同一個体の時系列変化を調べることは有力な方法である^{*1}。

d) 産卵動向を推定する手法の開発

野外調査についてまわる問題点の中で、個体群を代表する標本が採れているかどうかは非常に重要な問題である。このことは、個体群中の成熟個体の割合を推定する際にも当てはまる。冬に黒潮本流およびその周辺で採集される成熟サイズ以上のサンマはほぼ100%成熟している^{*2}。しかし冬のサンマの分布範囲は完全には特定されていない。もし採集域以外においても成熟サイズ以上で未成熟な個体がまぎって分布していれば、ほぼ100%と推定した成熟率は過大評価となる。このような推定誤差を極力減らすための情報の一つとして、個体の産卵動向（stage of spawning）が挙げられる。ここでいう産卵動向とは、ある個体がその個体の数ヵ月間にわたる産卵期の中で、これまでどれくらい産卵していて、今後どれくらい産卵するかという産卵の進行状況の尺度であり、単純化して言えば産卵初期、盛期、末期などと表現できる。例えばある産卵場で調査をすると3ヵ月にわたりほぼ100%の成熟個体が採集できたとする（Fig. 6aおよびb）。最初の1ヵ月は全ての個体が産卵初期、次の1ヵ月は全て盛期、最

*1 栗田 豊，藤浪祐一郎，天野勝文，Pham K.X.，山森邦夫，2005: 飼育下におけるヒラメの生殖日周期。平成17年度日本水産学会大会講演要旨集，p.41。

*2 栗田 豊，2001: サンマの産卵場および産卵量の季節変化。第49回サンマ資源研究会議報告，東北区水産研究所八戸支所，pp.203-205。

後の1ヵ月は全て末期であれば (Fig. 6 a), 調査期間中同じ個体群が調査対象となっていた可能性が高い。しかし、個体群の産卵期 (3ヵ月) 中の長い期間 (図では2ヵ月以上) で産卵初期の個体が採集された場合は、産卵期中に常に、新たに成熟を開始した個体が調査海域の外から移入してきたと推察される (Fig. 6 b)。また、産卵期中の長い期間 (図では2ヵ月以上) で産卵末期の個体が出現すれば、産卵を終了した個体は終了後ただちに調査海域から移出したと推察される (Fig. 6 b)。この場合、見かけ上の成熟率は100%であるが、実際は個体群の一部のみが産卵していたことになる。このように個体の産卵動向がわかると、産卵親魚の調査海域の利用状況や個体群全体の繁殖特性が推察できる。また、孕卵数、バッチ産卵数、卵径などの繁殖特性値は、産卵の進行に伴って変化することが知られている (大西洋タラ, Kjesbu *et al.*, 1991; 1996)。個体レベルの産卵期が個体間で同期していない場合、同時に採集された標本には、産卵初期の個体と末期の個体が混在する (Fig. 6 b)。したがって、野外採集した

標本を用いて産卵の進行に伴う特性値の変化を調べるためには、採集時期を基準にして調べるのではなく、個々の標本の産卵動向で基準化して比較する必要がある。

Kjesbu *et al.* (1990) は卵群同期発達型-1産卵期複数回産卵型である大西洋タラの産卵動向を、卵母細胞径分布を用いて推定する手法を開発した (Fig. 7)。卵群同期発達型-1産卵期複数回産卵型では、上述のように、当該産卵期に産卵可能となる卵母細胞群 (卵黄球期) がある程度の大きさまで成長し、それらのうち一部の細胞が最終成熟を経て産卵に至る過程を繰り返す (Fig. 1 b)。卵黄を蓄積した細胞群のうち小さな細胞はゆっくりと成長を続けることから、この細胞群の細胞径の標準偏差は、産卵の進行に伴って小さくなっていく (Fig. 7)。Kjesbu *et al.* (1990) は産卵履歴を把握している飼育個体を定期的に採集して、卵黄を蓄積した細胞群の径の標準偏差と産卵の進行度合い (portion of eggs spawned; 見込まれる総産卵数に対する調査時までの累積産卵数の割合) の関係を定式化した。さらにこの関係を適当に修正して、産卵期中に

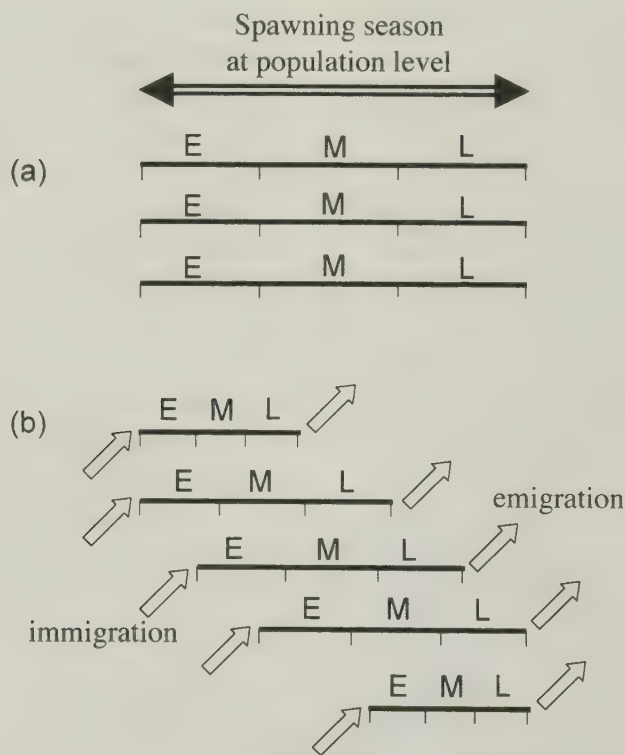


Fig. 6. Schematics showing possible relationships between spawning season at the population level and at an individual level in relation to the stage of spawning. (a) Spawning season of each individual corresponds to the spawning season at the population level. (b) Spawning season of some fish are shorter than that of the population. If spawning fish immigrate into the survey area just before spawning and emigrate just after spawning, 100 % of sampled fish appear as active spawners while the actual spawning fraction of the population is less than 100 %. E, early stage of spawning; M, middle stage of spawning; L, late stage of spawning.

採集した天然個体の産卵動向と採集時の孕卵数から産卵期中における総産卵数を推定した (Kjesbu *et al.*, 1998)。この手法は大西洋タラ以外でも、卵群同期発達型－1産卵期複数回産卵型の魚種で適用可能かもしれない。しかし非同期発達型の魚種では、産卵期中に、常に卵黄蓄積卵母細胞の加入があるので、卵黄蓄積細胞群の細胞径の変化から産卵動向を推定するのは困難である。これに代わる方法の一つの可能性は、卵母細胞の発達段階組成から推定する方法である。卵母細胞の数は、卵原細胞の増殖速度と卵原細胞から卵母細胞へと変化する割合で決定する。また、成長期の卵母細胞は卵黄を蓄積しない周辺仁期以前、内生的な蓄積を開始する表層胞期（または油球期）、肝臓で形成される卵黄を蓄積する卵黄球期に分けられる。これらの細胞数の比が、産卵の経過に伴って何らかの傾向を持って変化するとすれば、細胞数の比が産卵動向の指標になる可能性がある。もう一つの可能性は、脳下垂体で生産される2種類の生殖腺刺激ホルモン〔濾胞刺激ホルモン (FSH)、黄体形成ホルモン (LH)〕の分泌活性を調べる方法である。マミチヨグ *Fundulus heteroclitus* では成熟期から産卵期にかけてFSHを生産している細胞数が多く、産卵期から産卵終了後まではLHを生産している細胞数が多い (Shimizu *et al.*, 2003)。これら

の2種類の生殖腺刺激ホルモンは成熟に関連して異なる働きをしていると考えられる。これらを生産する細胞数の比が産卵の進行に伴いある傾向をもって変化すれば、その比を指標にして産卵動向を予測することができる。

産卵動向を予測する手法を開発するためには、用いる標本の当該産卵期における産卵履歴が既知である必要がある。飼育実験が不可欠である。個体ごとの産卵動向は、個体および個体群の繁殖生態、さらにその変動機構を理解するうえで重要な基礎情報である。特に、繁殖特性に関して個体群の全体像を捉えにくい非同期発達型の魚種において、その重要性が高い。産卵動向を推定する手法が早期に開発されることが望まれる。

e) 成熟・産卵の開始および終了と水温および光周期の関係

卵原細胞の分裂時期、卵母細胞の形成時期、成熟開始時期、卵母細胞の成長速度、産卵開始時期、産卵終了時期などは水温または光周期、もしくはその両方の影響を強く受ける。これらの特性の変化は、産卵数に影響する。また産卵期の変動は個体群動態に影響する可能性がある (Kjesbu *et al.*, 1996; Hugget *et al.*, 2003; Kurita, 2006)。これらの特性の変動要因の解明は個体群動態研究に関わる繁殖特性研究の中で重要な

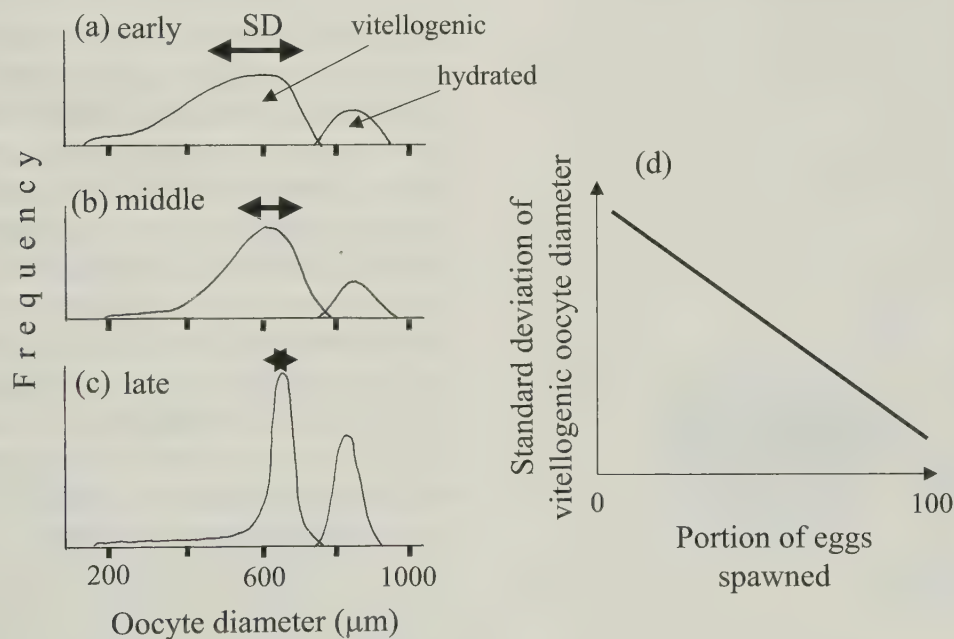


Fig. 7. A schematic showing the relationship between standard deviation (SD) of vitellogenic oocyte diameter and portion of eggs spawned (PES) which is defined as the number of eggs spawned in the current spawning season divided by the sum of number of eggs spawned and number of vitellogenic oocytes left in an ovary. (a) - (c) Temporal changes in oocyte diameter distribution and SD of vitellogenic oocyte diameter with the progress of spawning; (a) early, (b) middle, and (c) late stage of spawning. (d) Relationship between SD and PES.

課題であり、やはり飼育実験が不可欠である。

3) 作業の省力化につながる手法の開発

発達段階ごとに卵母細胞の数を計数したり細胞径を計測する際に、組織切片を用いることが多い。切片上で観察される細胞数の比は、対象となる細胞の大きさに逆比例する。例えば径の大きさが1:4である2種類の細胞が、ある切片上で2:1の数量割合で観察されたとする。この場合、実際の細胞数は径の逆数で補正した8:1である (Fig. 8)。また、組織切片の作成過程で細胞が収縮することがある。切片標本を用いて計数・計測する場合、これらのことを常に考慮する必要がある。計数上のバイアスを取り除く方法として、stereological methodがある (Emerson *et al.*, 1991; Andersen, 2003; Murua *et al.*, 2003)。これは断面を用いて立体物を計数する方法である。この方法を採用すると、細胞の大きさや形状の影響を受けずに正確に計数できる。しかし切片を作成したり画像を解析する手間がかかる。

数多くの細胞を調べる必要がある場合、または細胞径を測定する場合は、生または固定した卵母細胞をそのままの状態 (whole mount) で実体顕微鏡下で計数・計測する方法が有効である。画像解析ソフトを併用すると、この作業は飛躍的に省力化される (Thorsen and Kjesbu, 2001; Murua *et al.*, 2003)。ただし卵母細胞の場合は、外見と発達段階を一致させるため、最初に組織学的手法で両者の対応関係を明らかにしておく必要がある。また、初期のatresiaやPOFを、実体顕微鏡下の観察により識別あるいはステージングするのは容易ではない。これらを可能にするための手法、例えばatresiaやPOFの染色法、の開発が待たれる。

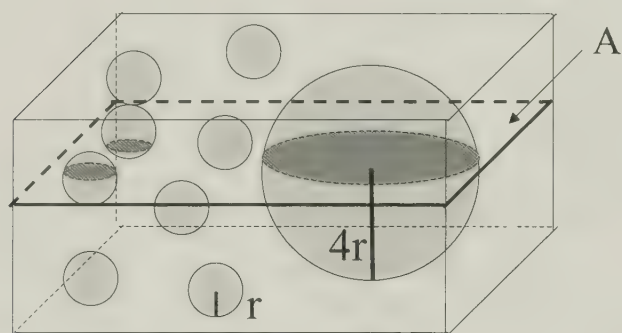


Fig. 8. Example of a potential error in estimating the number of two types of oocytes with different diameters. The probability of oocytes being sectioned in a cross section A (shown as heavily shaded eclipses) in an ovary is inversely proportional to the diameter of the oocytes.

繁殖特性値の変動要因を特定しその影響を定量評価するために行う野外調査の問題点と必要な飼育実験

繁殖特性値に影響を及ぼす要因の候補としては、水温、摂餌量、栄養状態、年齢、産卵履歴、遺伝的性質などが挙げられる。一方、影響される繁殖特性の候補として、成熟速度、産卵量、産卵頻度、産卵期の長さ、繁殖と成長のエネルギー配分などが挙げられる。これらの関係を飼育実験により定量的に明らかにするためには、数ヵ月 (成熟から産卵までの過程の変動評価) から数年 (過去の産卵や摂餌履歴の影響評価) にわたる中・長期的な実験を行う必要がある。

魚の繁殖特性値の変動を規定する主要な環境要因は餌料環境と水温である。これらは直接繁殖特性値に影響する場合もあれば、魚が経験してきた環境の蓄積結果として成長や栄養状態が変動し、それらが繁殖特性値に影響する場合もある。水温が直接影響する例としては、成熟速度 (太平洋ニシン, Ware and Tanasichuk, 1989; 大西洋タラ, Kjesbu, 1994)、産卵間隔 (カタクチイワシ, 靄田, 1992) など、摂餌量が直接影響する例としては産卵量や産卵間隔 (northern anchovy, Hunter and Macewicz, 1985; カタクチイワシ, 靄田, 1992) などが知られている。また成長が影響する例としては成熟体長や成熟年齢の変化 (マイワシ *Sardinops melanostictus*, 和田, 1988; Morimoto, 2003)、栄養状態が影響する例としては産卵量 (大西洋タラ, Kjesbu *et al.*, 1998; Lambert and Dutil, 2000; 大西洋ニシン, Kurita *et al.*, 2003) や成熟速度 (大西洋タラ, Kjesbu, 1994) などが知られている。これらの関係は、成熟・産卵期を通して異なる水温および摂餌量の条件下で飼育したグループ間で特性値を比較することにより評価することができるであろう。

摂餌量の影響の仕方は、栄養蓄積と再生産への投資に関する種特異的なスケジュールによって大きく異なる。例えば卵群同期発達型 (タイプ I および II) に代表される魚種では、比較的長期にわたって卵母細胞が成長して、1回または少数のバッチを産卵する。この様な魚種では摂餌量が産卵量に影響を及ぼす時期は産卵期よりも前の成熟過程の時期である (capital spawner)。例えばニジマス *Oncorhynchus mykiss* では成熟初期 (表層胞期まで) の摂餌量が産卵量に影響し、その後産卵までの期間に摂餌量を変化させても産卵量への影響はほとんど認められない (Bromage *et al.*, 1992)。これに対して非同期発達型 (タイプ III) に代表される、成熟期間が比較的短く、多数のバッチを産卵する魚種では、産卵期中の摂餌の可否が直接産卵量に影響する度合いが大きい (income spawner)。カタクチ

イワシでは産卵期中の餌の変化に対応して、餌の変化の2週間後には繁殖特性値が変化する(靄田, 1992)。また, nortehrn anchovyでは、産卵期中に摂餌を停止させると6日後にはほとんどの個体が正常な卵黄蓄積細胞を持たなくなる。その後、卵黄蓄積細胞が全くなくなった個体に摂餌を再開させると、7日後には卵黄蓄積を再開する(Hunter and Macewicz, 1985)。摂餌時期および摂餌量が産卵数に及ぼす影響は、いくつかの時期に摂餌量を変化させ、産卵量に影響する時期を特定する飼育実験、また、摂餌量と産卵量を比較する飼育実験によって評価できる。

長期間にわたる飼育実験では、短期間の飼育実験以上に、飼育の人為的環境が結果に及ぼす影響に細心の注意を払う必要がある。例えば飼育に用いる餌の質が天然に比べて劣る可能性があること(Seikai *et al.*, 1997)、飼育水槽の形状や広さ、同種個体の密度、水質、照度、人影や物音、人工的な環境などが、直接またはストレスとして間接的に魚に影響する可能性がある。また、行動や運動量が天然とは異なる可能性が高い。したがって野外で生じている現象を正確に評価する努力を怠らないこと、飼育実験の結果と野外調査の結果を常に比較することが重要である。

まとめ

以上、繁殖特性研究のための野外調査における問題点と、それを補う飼育実験について述べた。繁殖特性研究に必要な飼育実験は魚種の成熟・産卵様式によって異なる。例えば比較的長期にわたって多数のバッチを産卵する魚種(非同期発達型)では、POF, 成熟・産卵日周期、産卵動向に関する飼育実験が必要である。一方1回産卵や少数のバッチを産卵する魚種(卵群同期発達型)では、atresia, 成熟速度などに関する飼育実験が必要である。また、どちらの成熟・産卵型の魚種でも、摂餌量や摂餌時期の変動が産卵量に及ぼす影響を評価することが重要な課題である。飼育実験を行う際には、飼育実験自体に様々なバイアスが入っていることを常に意識して、野外調査の結果と常に対比することが非常に重要である。野外調査と飼育実験を適正に併用して、野外個体群の繁殖特性値を高い精度で推定すること、および特性値の変動要因を特定しその影響を定量評価することは、資源変動機構の解明に必要不可欠な課題である。

文 献

- Andersen T.E., 2003: Unbiased stereological estimation of cell numbers and volume fractions: the desector and the principles of point counting, in "Modern Approaches to Assess Maturity and Fecundity of Warm- and Cold-Water Fish and Squids" (ed. by Kjesbu O.S., Hunter J.R., and Witthames P.R.), Institute of Marine Research, *Fisken og Havet*, **12**, 11-19.
- Bromage N., Jones J., Randall C., Thrush M., Davies B., Springate J., Duston J., and Barker G., 1992: Broodstock management, fecundity, egg quality and the timing of egg production in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, **100**, 141-166.
- Dickerson T.L., Macewicz B., and Hunter J.R., 1992: Spawning frequency and batch fecundity of chub mackerel, *Scomber japonicus*, during 1985. *Cal. Coop. Ocean. Fish. Invest. Rep.*, **33**, 130-140.
- Emerson L.S., Greer Walker M., and Witthames P.R., 1991: A stereological method for estimating fish fecundity. *J. Fish Biol.*, **36**, 721-730.
- Goldberg S.R., Alarcon V.H., and Alheit J., 1984: Postovulatory follicle histology of the Pacific sardine, *Sardinops sagax*, from Peru. *Fish. Bull. U.S.*, **82**, 443-445.
- Greer Walker M., Witthames P.R., and Bautista De Los Santos I., 1994: Is the fecundity of the Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*: Scombridae) determinate? *Sarsia*, **79**, 13-26.
- 羽生 功, 1991: 生殖周期, 「魚類生理学」(坂沢靖男, 羽生 功編), 恒星社厚生閣, 東京, pp.287-325.
- 広瀬慶二(編), 1991: 海産魚の産卵・成熟リズム(水産学シリーズ85), 恒星社厚生閣, 東京, pp.142.
- Hugget J., Freon P., Mullon C., and Penven P., 2003: Modelling the transport success of anchovy *Engraulis encrasicolus* eggs and larvae in the southern Benguela: the effect of spatio-temporal spawning patterns. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **250**, 247-262.
- Hunter J.R. and Goldberg S.R., 1980: Spawning incidence and batch fecundity in northern anchovy, *Engraulis mordax*. *Fish. Bull. U.S.*, **77**, 641-652.
- Hunter J.R. and Macewicz B.J., 1985: Rates of atresia in the ovary of captive and wild northern anchovy, *Engraulis mordax*. *Fish. Bull. U.S.*, **83**, 119-136.
- Kjesbu O.S., 1994: Time of start of spawning in

- Atlantic cod (*Gadus morhua*) females in relation to vitellogenic oocyte diameter, temperature, fish length and condition. *J. Fish Biol.* **45**, 719-735.
- Kjesbu O.S., Klungsoyr L., Kryvi H., Witthames P.R., and Greer Walker M., 1991: Fecundity, atresia, and egg size of captive Atlantic cod (*Gadus morhua*) in relation to proximate body composition. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **48**, 2333-2343.
- Kjesbu O.S., Solemdal P., Bratland P., and Fonn M., 1996: Variation in annual egg production in individual captive Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **53**, 610-620.
- Kjesbu O.S., Witthames P.R., Solemdal P., and Greer Walker M., 1990: Ovulatory rhythm and a method to determine the stage of spawning in Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **47**, 1185-1193.
- Kjesbu O.S., Witthames P.R., Solemdal P., and Greer Walker M., 1998: Temporal variations in the fecundity of Arcto-Norwegian cod (*Gadus morhua*) in response to natural changes in food and temperature. *J. Sea Res.* **40**, 303-321.
- 小林牧人, 足立伸次, 2002: 生殖, 「魚類生理学の基礎」(会田勝美編), 恒星社厚生閣, 東京, pp.155-184.
- Kurita Y., Meier S., and Kjesbu O.S., 2003: Oocyte growth and fecundity regulation by atresia of Atlantic herring (*Clupea harengus*) in relation to body condition throughout the maturation cycle. *J. Sea Res.*, **49**, 203-219.
- Kurita Y., 2006: Regional and interannual variations in spawning activity of Pacific saury, *Cololabis saira*, during northward migration in spring in the northwestern Pacific. *J. Fish Biol.*, in press.
- Lambert Y. and Dutil J.-D., 2000: Energetic consequences of reproduction in Atlantic cod (*Gadus morhua*) in relation to spawning level of somatic energy reserves. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **57**, 815-825.
- Marza V.D., 1938: Histophysiologie de l'ovogenese. Hermann, Paris, 81 pp.
- Matsuyama M., Adachi S., Nagahama Y., and Matsuura S., 1988: Diurnal rhythm of oocyte development and plasma steroid hormone levels in the female red sea bream, *Pagrus major*, during the spawning season. *Aquaculture*, **73**, 357-372.
- Morimoto H., 2003: Age and growth of Japanese sardine *Sardinops melanostictus* in Tosa Bay, south-western Japan during a period of declining stock size. *Fish. Sci.*, **59**, 745-754.
- Murua H., Kraus. G., Saborido-Rey F., Witthames P.R., Thorsen A., and Junquera S., 2003: Procedures to estimate fecundity of marine fish species in relation to their reproductive strategy. *J. Northw. Atl. Fish. Sci.*, **33**, 33-54.
- Picquelle S. and Stauffer G., 1985: Parameter estimation for an egg production method of northern anchovy biomass assessment, in "An Egg Production Method for Estimating Spawning Biomass of Pelagic Fish: Application to the Northern Anchovy, *Engraulis mordax*" (ed. by Lasker R.), *NOAA Tech. Rep. NMFS* **36**, pp7-15.
- Priede I.G. and Watson J.J., 1993: An evaluation of the daily egg production method for estimating biomass of Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*). *Bull. Mar. Sci.*, **53**, 891-911.
- Seikai T., Takeuchi T., and Park G.S., 1997: Comparison of growth, feed efficiency, and chemical composition of juvenile flounder fed live mysids and formula feed under laboratory conditions. *Fish. Sci.*, **63**, 520-526.
- 清水昭男, 2006: 生殖生理に関する研究手法と水産重要魚種の再生産研究高度化への応用. 水研センター研報, 別冊第4号, 63-70.
- Shimizu A., Tanaka H., and Kagawa H., 2003: Immunocytochemical applications of specific antisera raised against synthetic fragment peptides of mummichog GtH subunits: examining seasonal variations of gonadotrophs (FSH cells and LH cells) in the mummichog and applications to other acanthopterygian fishes. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **132**, 35-45.
- 高野和則, 1989: 卵巣の構造と配偶子形成, 「水族繁殖学」(隆島史夫・羽生 功編), 緑書房, 東京, pp.1-34.
- Thorsen A. and Kjesbu O.S., 2001: A rapid method for estimation of oocyte size and potential fecundity in Atlantic cod using a computer-aided particle system. *J. Sea Res.*, **46**, 295-308.
- 鶴田義成, 1992: カタクチイワシの成熟・産卵と再生産力の調節に関する研究. 水工研報, **13**, 129-168.
- Wallace R. and Selman K., 1981: Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleosts. *Am.*

Zool., **21**: 325-343.

- 和田時夫, 1988: 道東海域におけるまき網対象マイワシ資源の来遊動態に関する研究. 北水研報, **52**, 1-138.
- Ware D.M. and Tanasichuk R.W., 1989: Biological basis of maturation and spawning waves in Pacific herring (*Clupea harengus pallasii*). *Can. J.*

Fish. Aquat. Sci., **46**, 1776-1784.

- Witthames P.R. and Greer Walker M., 1995: Determinacy of fecundity and oocyte atresia in sole (*Solea solea*) from the Channel, the North Sea and the Irish Sea. *Aquat. Living Resour.*, **8**, 91-109.

資源学的立場からみたマサバ太平洋系群の生殖生態研究の現状と問題点

渡邊千夏子*

A Review of the Reproductive Studies for Chub Mackerel in Relation to the Stock Assessment.

Chikako WATANABE*

Abstract This review summarized the reproductive biology of the Pacific stock of chub mackerel in relation to the stock assessment by the Egg Production Method (EPM).

The main spawning period was in April in the 1970s when the biomass of chub mackerel was high, and in June in recent years when the biomass was low. On the other hand, the spawning ground has remained in the central part of the Pacific coast of Japan, around the Izu Islands, for the past 30 years. The depth and the water temperature of the spawning ground were estimated to be about 50m and 14-18°C respectively. The spawning time was estimated to be 20-24hr. The annual means of the spawning frequency varied from 0.17 to 0.34, and the individual batch fecundity varied from 14 to 150 thousand eggs/female.

This review also discussed the problems for applying EPM, and proposed incorporation of the reproductive biology in the process of the stock assessment and management of chub mackerel.

Key words: reproduction, stock assessment, egg production method, batch fecundity, spawning frequency, chub mackerel

はじめに

国連海洋法条約批准に伴い我が国においても1997年から、マサバやマイワシなどに対し許容漁獲量（TAC）による管理が始まった。以来、資源量推定法の検討、TAC設定の基礎となる生物学的許容漁獲量（Allowable Biological Catch: ABC）算定ルールの策定、資源評価報告書の公開などが進められ、資源管理の体制が整えられてきた。一方、資源評価や管理における問題も明確になってきている。本報告ではマサバの資源評価と管理に関係した、フィールド調査を通じた生殖生態研究のこれまでの知見と今後求められる課題を整理する。

TACによる資源管理制度は、漁獲量の総量を制限す

る制度である。現在TACによる管理の対象種になっているのは8魚種19系群であり、このうち15系群が資源量推定値に基づきABCを算定している。資源量推定値の精度を高めることは、現在の資源管理において最も重要な課題である。マサバの資源量は年齢別漁獲尾数に基づいて資源尾数を推定するコホート解析（Virtual Population Analysis: VPA）によって行われている（谷津ら, 2004）。VPAの詳細については平松（2001）に詳しい。平松（2001）は、VPAの特徴として以下の3点を挙げている。すなわち、1）漁獲圧が強いほど推定値は信頼できる、2）最高齢および最近年の値を変えると、高齢部分および近年の推定値は変化するが、年齢を遡るにつれてその影響は小さくなる、3）自然死亡係数（M）を変えると資源の絶対値は変化するが、相

対的なトレンドはあまり変わらない、の3点である。これらの特長は資源管理を行う場合には重要な問題となる。1) の特徴は、管理が実行され漁獲圧が減少すると推定値の信頼性が低くなること、2) は資源管理上重要な、最近年の資源量推定値の不確実性が高いこと、3) は推定される資源量の絶対値の信頼性は高くないことを意味する。各種調査船調査によって得られる資源量指数や、主要漁業の有効努力量によって調整（チューニングと呼ばれる）することによって、最近年の推定値の信頼性の向上に努めているが、絶対値の推定精度を向上させるには不十分である。VPA特有の問題を解決するには、計量魚探や産卵量に基づく資源量推定法といった、VPA以外の手法による資源量推定値との比較が必要である。

またVPAそれ自身が持つ問題ではないが、VPAに基づく資源評価においてあげられる問題に、産卵親魚量 (spawning stock biomass; SSB) の推定がある。現在の資源評価ではSSBはVPAによって推定される年齢別資源量と、生物調査から得られる年齢別成熟割合によって求められている。SSBは資源の変動と管理基準を考える際の重要な数値である。マサバの資源管理は基本的に「親魚を保護して加入量を確保する」という加入管理の考え方に基づいており、ABC算定の基準はSSBである。再生産関係から資源の状況を判断する場合も、加入量とSSBの関係が用いられる。しかしSSBの推定に必要な成熟割合の精度はかならずしも十分検討されていない。マサバやマイワシの成熟割合は資源水準に応じて変動することは経験的に知られていても、毎年実測し資源評価に用いる段階には至っていない。成熟割合の推定精度の向上は、SSBの推定精度の向上に繋がる重要な検討事項である。

ここではまず産卵量による資源量推定法について述べ、マサバに適用する場合の問題点を整理する。次にVPAからSSBを計算するための成熟割合の推定について述べ、問題点と今後の課題を検討する。

産卵量からの資源量推定法

産卵量からの資源量推定法は、日本で開発された卵数法 (渡部, 1983) が元となり、諸外国で改良が重ねられてきた。卵数法は、年間の総産卵量から資源量を推定することから、Annual Egg Production Method (AEPM) とも称されている。その後米国で卵数法を改良したDaily Egg Production Method (DEPM) が開発され (Lasker, 1985)、その後も仔稚魚に基づく手法などさまざまな状況に応じた改良がなされ、広く用いられている (たとえばHeath (1993) など)。

産卵量から資源量を推定する方法は、簡単にいえば、「卵の数」を、「一尾の雌が産む卵の数」で割ることにより、親の数を推定する方法である。「卵の数」は50粒とする。「一尾の雌が産む卵の数」は10粒であるとする。すると親の数は5尾と推定される、という具合である。AEPMは、「卵の数」として「産卵量調査によって得られる年間産卵量 (annual egg production: P)」を推定し、これを「一尾の雌が産む卵の数」である「雌一尾あたり年間総産卵数 (annual fecundity: F)」で割ることにより資源量を推定する (Fig. 1, 詳細はParker, 1985; Hunter and Lo, 1993など)。しかし一産卵期に産み出す卵の数が産卵期の前に決まっていない魚種では、雌一尾あたり年間総産卵数は魚種によっては推定が不可能であり、AEPMは適用できない。このような魚種にも対応できるように改良されたのがDEPMである (Fig. 1, Parker, 1985)。DEPMは、調査期間中、産卵は定常的に行われていることを前提とし、「卵の数」として「ある1日の産卵量 (daily egg production)」を推定し、「一尾の雌が産む卵の数」を、「ある1日に産卵する雌の割合 (産卵頻度, spawning frequency: S)」と、「雌一尾一回あたり産卵数 (バッチ産卵数, batch fecundity: F)」として、資源量を推定する (Fig. 1)。すべてのパラメータを1日あたりとしたことと、「一尾の雌が産む卵の数」を、産卵頻度とバッチ産卵数の積で表すことにより、AEPMが適用できない魚種でも、産卵量からの資源量推定を可能にした。

産卵量の推定

産卵量は産卵調査によって推定される。産卵調査は、日本では水産庁研究所・各県水産試験場によって組織的に行われており、その結果は中央水産研究所から公表されている (久保田ら, 1999)。マサバでは、これまで近縁種であるゴマサバの卵との区別ができず「サバ類」としての産卵量しか得られない問題があったが、近年遺伝学的手法と卵径の違いによって、両種の卵を区別することが可能となり、種判別の問題はほぼ解決された。今後魚種別の産卵量の情報が得られるようになれば、マサバおよびゴマサバの産卵生態において、これまで不明であった両種の産卵場や産卵期の違い (または重なり) や、資源の動向そのものに関する新たな知見が得られると期待される。

久保田ら (1999) に従って日本で行われている産卵調査の概要と産卵量の計算方法について簡単に述べる。フィールドでの卵・仔稚魚の採集は改良ノルバックネット (口径45cm円筒円錐型、網目0.335mm、詳細は、森, 1992など) などを用いて行う。水深150mから1m/秒

の鉛直曳網を行い、標本は船上でホルマリン固定し、プランクトン沈殿量を測定、卵・仔稚魚を抜き出し同定・計数・計測を行う。採集時の卵の分布密度を卵の発達ステージごとに求める。ふ化までにかかる日数は水温によって変化することから、採集時の水温から逆算して、産卵からふ化までにかかる日数をもとめる。採集時の卵の分布密度、産卵からふ化までにかかる日数、卵の1日あたりの死亡率を与えることにより、1日あたり単位面積あたり（実際は緯経度30分で区切った升目の面積）の産卵量がわかる。日本における産卵量の計算では、産卵調査のデータを月ごとに集計し、月ごとに1日当たり産卵量の平均値を計算し、これに月の日数をかけて各月の産卵量を計算する。それらを一年分合計すると年間総産卵量となる。

産卵調査から得られる成熟生態に関する情報

産卵量を推定するための調査では、産卵量だけでなく、さまざまな生殖生態に関する知見を得ることができる。マサバのような遊泳力の強い魚をフィールド調査で追跡するには高いコストがかかる上、産卵というイベントは夜間のごく短い時間に起こるため、産卵水

深や産卵水温、あるいは産卵場の広がりなどの情報を得るのは困難である。そのような情報は浮遊する卵を調べたほうが効率がよく、産卵調査の持つ意義は大きい。

産卵期：産卵期は親の成熟状態からも判断されるが、卵の出現時期から判断したほうがより明確である。

Fig. 2の折れ線グラフは、産卵量からみた産卵盛期の経年変化を示したものである。卵の分布量のピークは長期的には5月にあったが、1970～1980年の資源が比較的多かった時期にはこれより早く4月にピークがあり、その後は遅く5～6月にピークが見られる年が多い。このような産卵盛期の変化の要因はまだわかっていない。

産卵場：資源量・産卵量ともに多かった1975年と、資源量が減少し、低水準となった1992年における卵の分布を比べると、産卵場の中心はいずれの年も伊豆諸島海域を中心とした黒潮内側域に集中していた。マイワシでは資源高水準期に産卵場が沖合に拡大した(Watanabe, *et al.*, 1997) ことと異なり、マサバは産卵場がかなり限定されていたといえる。

産卵水温・産卵水深・産卵時刻：渡部(1970)は卵の採集調査を通じて、産卵水深・産卵水温に関する知見

Annual egg production method (AEPM)

Daily egg production method (DEPM)

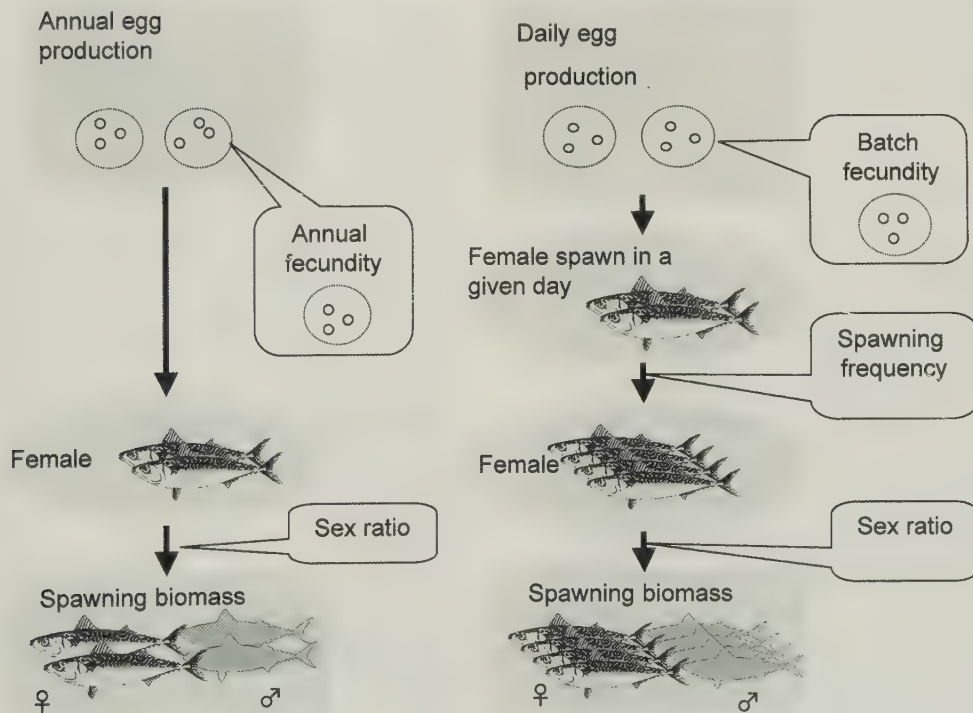


Fig. 1. The processes of annual egg production method and daily egg production method.

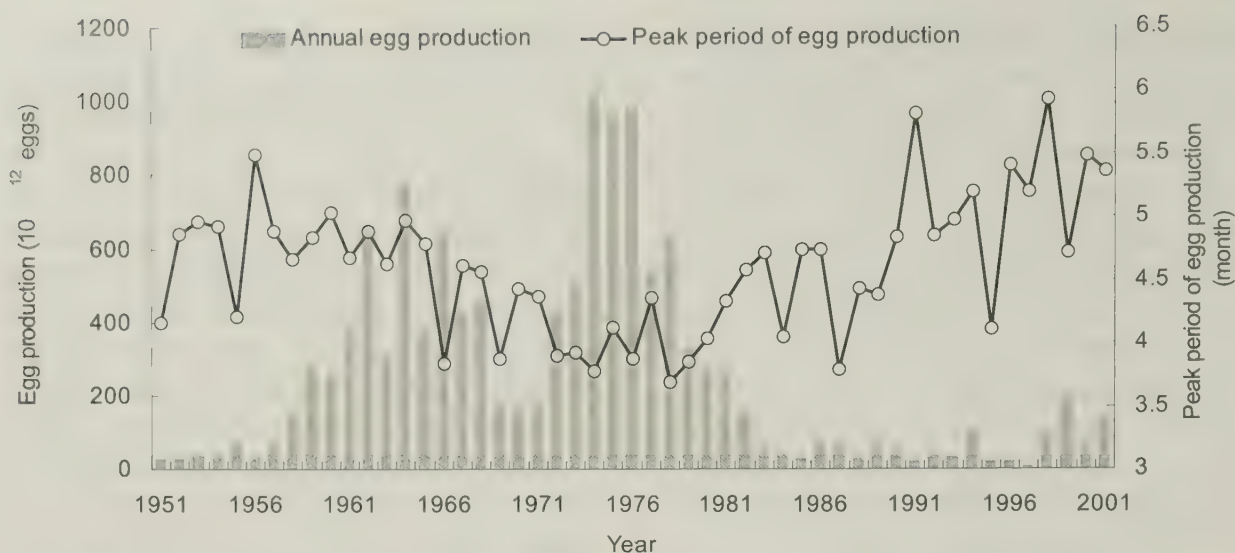


Fig. 2. Annual egg production and peak period of egg production of the Pacific stock of chub mackerel. Peak period of spawning is defined as

$$\frac{1}{p} \sum_{i=1}^{12} m_i p_i$$

where p is annual egg production, p_i is monthly egg production of month i , $m_i=1\sim12$ (e.g. January=1)

を得ている。産卵水深については、産卵直後と見られるAaaステージやAステージの卵は、他の発達ステージの卵にくらべて水深50m以深に分布する割合が高いことから、マサバの産卵は水深50m以深で行われ、産卵後ただちに表層へ浮上するものと推察している。また卵の分布が観測された点の水温と塩分の関係から、マサバの産卵水温を14～18度と推定している。産卵時刻は卵の採集状況からみて20～24時の前夜半としている。

親魚のパラメータの推定

産卵頻度：産卵頻度は、「ある1日に産卵する雌の、雌全体に対する割合」と定義される。ある1日に産卵した雌を同定するために、組織学的手法が用いられる。Hunter and Macewicz (1985) による産卵頻度の推定方法は以下のとおりである。1) 産卵時刻のわかっている飼育魚の卵巢を用いて排卵後濾胞を組織学的に観察し、排卵後の経過時間にともなう排卵後濾胞の形態の変化を把握する、2) 天然魚の卵巢を組織学的に観察し、卵母細胞の発達段階や排卵後濾胞の退行の様子を観察する (Fig. 3)。3) あらかじめ調べられている産卵時刻と卵巢観察結果から、それぞれの個体が産卵する、あるいは産卵した日を特定する。胚胞移動期の卵母細胞をもつ個体＝採集日の翌日に産卵するであろう個体、吸水卵および排卵直後（0日）の排卵後濾胞を持つ個体＝採集日当日に産卵する・あるいは産卵した個体、

排卵後1日が経過した排卵後濾胞を持つ個体＝採集日前日に産卵した個体、といった具合である。そして最後に、4) ある1日に産卵した雌の数／標本中の雌の数から産卵頻度を推定する。

カリフォルニア海流域に生息するマサバについては、排卵後の時間にともなう排卵後濾胞の消失過程が飼育実験によって明らかにされているし (Dickerson, *et al.*, 1992), 日本でも飼育実験が進行し、種々のパラメータが得られはじめている (村田ら, 2003; Shiraishi, *et al.*, 2005)。筆者らはDickerson *et al.* (1992) の報告をもとに排卵後濾胞の排卵後経過時間を特定した (渡邊ら, 1999)。しかしDickerson *et al.* (1992) の飼育実験は水温18℃で行われており、マサバ太平洋系群の産卵場の水温は、産卵期の経過にともなって13～23℃になることを考えると、さまざまな水温帯で排卵後濾胞の退行過程を確認する必要がある。

年間総産卵数・バッチ産卵数 バッチ産卵数は「雌一尾が一回の産卵で産み出す卵の数」であり、卵巢中の吸水卵または胚胞移動期の卵母細胞を数える方法 (Dickerson, *et al.*, 1992; Hunter and Leong, 1985), 卵径組成から最も発達した卵群の数を数える方法がある (Hunter and Leong, 1985)。吸水卵はサイズが大きく全体に透明で容易に判別できる。胚胞移動期の卵母細胞は、油球が中央に集まって融合し、これが透けて見えることから判別できる。しかしマサバでは 1) 吸水卵をもつ個体が漁獲されにくい (渡部, 1970), 2) 胚胞移動期の卵母細胞の計数は油球が不鮮明で判別困

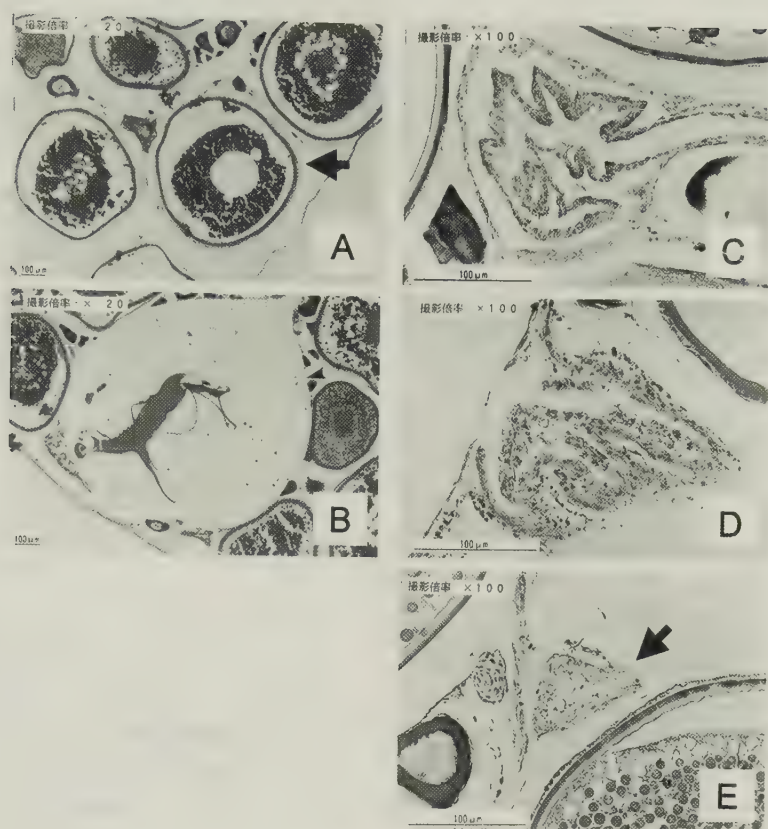


Fig. 3. Histological sections of oocyte and postovulatory follicles (PO) of chub mackerel. A) migratory nucleus stage oocyte, B) hydrated oocytes, C) age-0 day PO which is in 0-9 h after ovulation, D) age-1 day PO which is in 16-33h after ovulation, E) age-2 day and older PO which is in 40h or more after ovulation.

難なことが多く、推定値は過少である可能性があるといった問題があり、この点がマサバにDEPMを適用する場合の障壁となっている。大西洋サバについては、1産卵期に産み出す可能性のある卵数（Annual potential fecundity）は産卵前に決まっているという報告があり（Walker, *et al.*, 1994）、これをannual potential fecundityとしてAEPMによる資源量推定が可能であるという報告もある（Pried and Watson, 1993）。Pried and Watoron (1993) は、Annual potential fecundity を、十分に卵巣が発達し、かつまだ産卵していない雌の卵巣中における、卵径 $130\mu\text{m}$ 以上の卵母細胞の数と定義している。

適用にあたって

筆者はマサバにDEPMを適用する際にはバッチ産卵数の推定、AEPMを適用する際には年間総産卵数の推定が重要な問題であると考え。DEPMは、カリフォルニア海流域のカタクチイワシのように分布域の移動が少なくかつ連続的に産卵する魚種の場合、産卵期間

全体を調べなくとも短期間の調査で産卵資源量が推定できるという考え方に基づく。マサバについてDEPMを適用する場合には、産卵親魚のほとんどが産卵場に集合しているときに調査を行わないと、資源量推定値の誤差が大きくなる。渡邊ら（1999）は、少なくとも産卵のピーク時には、ほとんどの産卵親魚が産卵場に集まると仮定して資源量推定を行ったものの、ある程度の移入・移出はいつでもあると考えられ、その度合いに応じて資源量推定値は誤差を含むことになる。これに対し、AEPMはこの点は考慮しなくてよい。日本のマサバは、産卵期前に一産卵期の総産卵数は決定していないと考えられているが、前述の大西洋サバの例のような検討はされていないので、今後検討する余地はあるかもしれない。現在は親魚のパラメータをとるための調査は定型的に行われておらず、産卵量に基づく資源量は推定されていない。最初に述べたように、単独の資源評価手法だけでは資源評価の信頼性は不十分であり、またせっかくの産卵量データも十分活かされていない。検討すべき点は多いが、定型的に親魚のパラメータをとり、産卵量から資源量を推定すること

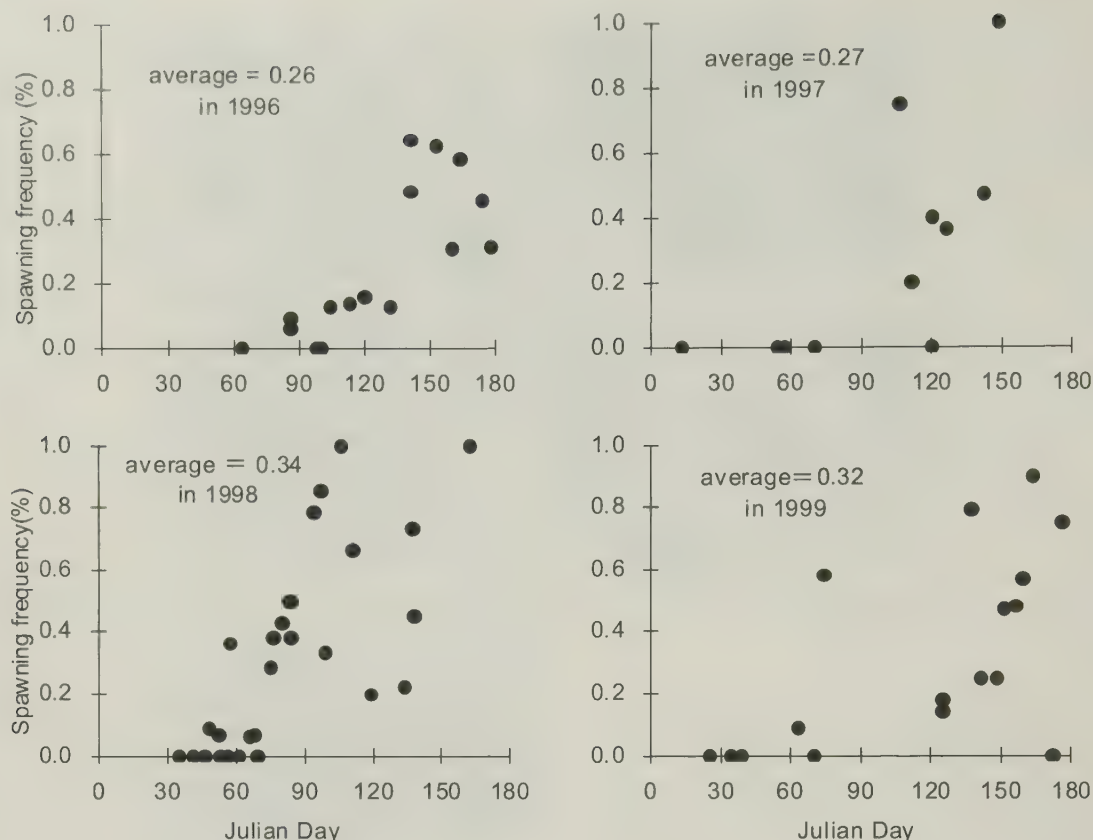


Fig. 4. Seasonal fluctuations of the spawning frequencies of chub mackerel between 1996 and 1999.

を、今後検討する必要がある。

親魚のパラメータからみたマサバの生殖生態

筆者らは1996年から1999年にかけて、マサバを採集し、DEPMに必要な親魚パラメータをとり、資源量推定を試みた(渡邊ら, 1999)。Fig. 4は産卵頻度の産卵期間中における変化を示したものである。マサバの産卵頻度は早いときは2月から上昇し始めて4月には0.5を超える標本がみられるようになる。遅い年では4月に上昇して5～6月に0.5を超える標本がみられるようになり、産卵期末期(6月末～7月)に至っても、産卵頻度は高い値を維持していた。産卵期から北上期にいたる7月に、北上経路にあたる房総半島沿岸で卵の分布が確認されたり、三陸沿岸の定置網に生殖腺指数の高いマサバが入網することはしばしば報告されており、マサバは産卵しながら伊豆諸島海域を離れ北上回遊に移行すると考えられる。各年の平均値は1996年から1999年の4年間で0.26～0.34であり、1993年および1994年について推定された値(それぞれ0.17及び0.26, Yamada *et al.*, 1998)に近い値となった。

1996～1999年のそれぞれの年について、各月ごとに産卵頻度を平均し、その逆数を各月の平均産卵間隔として年間の産卵回数を推定したところ、4年間の産卵回数は14～32回となった。Pried and Watson (1993)は、大西洋サバの雌の体重あたりの annual potential fecundityは1,608 eggs/g、メスの体重あたりバッチ産卵数は41～55.5 eggs/gと推定しており、ここから考えられる雌1尾の1産卵期における産卵可能回数は30～40回となる。マサバのannual potential fecundityとBatch fecundityを推定できれば、Pried and Watson (1993)の方法で産卵回数が推定でき、天然海域の調査で得られた産卵頻度の妥当性を検証できる。バッチ産卵数は、上述のとおり推定に難しい面があって2年分しかデータを取得できなかった(Fig. 5)。雌一尾あたりのバッチ産卵数は、1996年は2万3千～3万6千粒/個体(平均2.9万粒/個体)、1998年は3万～7万2千粒/個体(平均4.1万粒/個体)であり、産卵期の経過とともにバッチ産卵数が減少する傾向がみられた(Fig. 5)。親魚群が産卵期のあいだ産卵場にとどまって繰り返し産卵するとすれば、産卵を繰り返すにつれて一回あたりの産卵数は減少していくと考えら

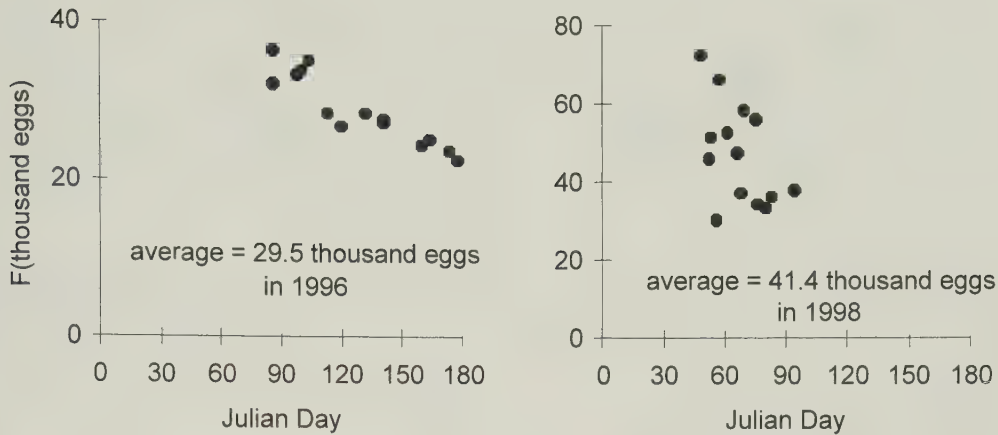


Fig. 5. Seasonal fluctuations of the batch fecundity of chub mackerel in 1996 and 1998.

れる。既往の知見では、1977・1978年について5～6万粒／個体（浅野，1985），1993・1994年について9万粒／個体（Yamada *et al.*, 1998），2005年の飼育実験では1.9～15万粒（Shiraishi *et al.*, 2005）との報告があり，本報告の結果はこれらと比較すると少ない。本報告では吸水卵を持つ個体の採集数が少なく，多くは胚胞移動期の卵母細胞を計数することによってバッチ産卵数を推定しており，このことが既往の知見より過少となった要因のひとつと考えられる。1996年の結果（渡邊ら，1999）では，吸水卵から推定したバッチ産卵数は3個体からしか推定できず，胚胞移動期の卵母細胞から推定したバッチ産卵数との明瞭な違いを示すことはできなかった。胚胞移動期の卵母細胞からバッチ産卵数を推定するには，ホルマリン固定した卵母細胞の透明化など，なんらかの処理が必要である。吸水卵から推定するなら，吸水卵もつ個体を漁獲しやすい漁具を検討する必要がある。それらの検討が十分なされてはじめて，バッチ産卵数の年変動の可能性やその要因の検討が可能になる。

年齢別成熟割合の推定－VPAからの産卵親魚量推定のために

VPAの結果から産卵親魚量を推定するには，年齢別成熟割合が必要である。現在，マサバをはじめとする資源評価の対象となる魚種は，資源評価調査において定型的調査として標本採集とデータ収集が行われており，個体ごとの体長・体重・性別・生殖腺重量・胃内容物重量などのデータは1970年から整理されているが，成熟状態を把握できるのは生殖腺重量のみである。なお通常生殖腺指数は，生殖腺重量を体重で除した値

（Gonad somatic index, GSI）であるが，マサバでは胃内容重量の影響を除去するため歴史的に，生殖腺重量を体長の3乗で除した値（KG）が用いられている。これ以降生殖腺指数とはKGを意味する。

生殖腺指数による成熟状態の把握

生殖腺指数は，その値だけでは成熟状態を正しく把握できないという問題があるが，データの蓄積は多く有効に活用すべきである。組織学的な観察結果と生殖腺指数をさまざまな点から比較することにより，生殖腺重量の変動や値からでも成熟状況をより正確に把握することが可能と考えられる。筆者らはマサバのKGと産卵頻度の季節変化を比較することにより，KGが上昇しピークに達したところ，産卵頻度が増加し始めることを明らかにした（Fig. 6，加藤と渡邊，2003）。また組織学的観察結果とKG値を比較し，3年間を通じて約80%以上の個体が卵黄蓄積した卵母細胞をもつKGの値（-3）を成熟・未成熟を判断する基準とし（Fig. 7），これを用いて年齢別の成熟割合の経年変化を過去に遡って推定した（Fig. 8）。最近3年間のデータのみで基準を定めてよいか，卵黄蓄積した卵母細胞をもてば産卵能力がある（成熟している）としてよいか，KGと卵巣の発達状況の対応が年によってどのくらい変化するかなど今後さらに検討してゆく必要がある。

その他の成熟状況の把握のための手法

現在の日本では，成熟に関する情報としては生殖腺重量と性別のみが定型的な調査によって得られている

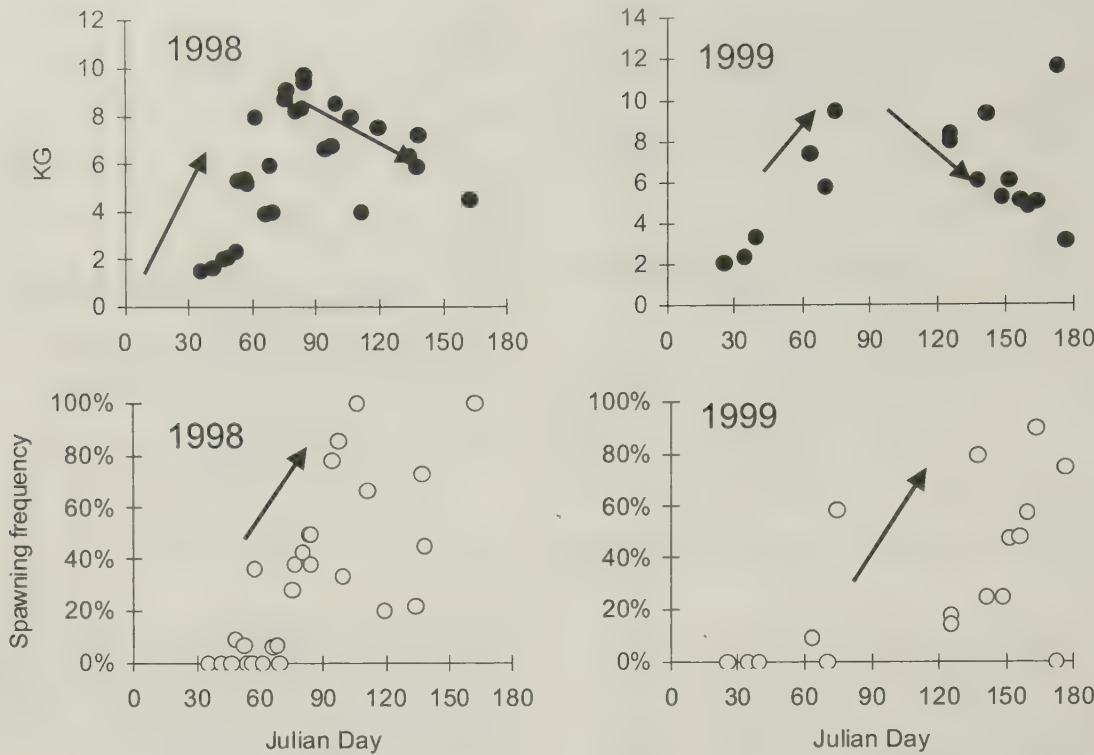


Fig. 6. Seasonal fluctuations KG and spawning frequencies in 1998 and 1999.

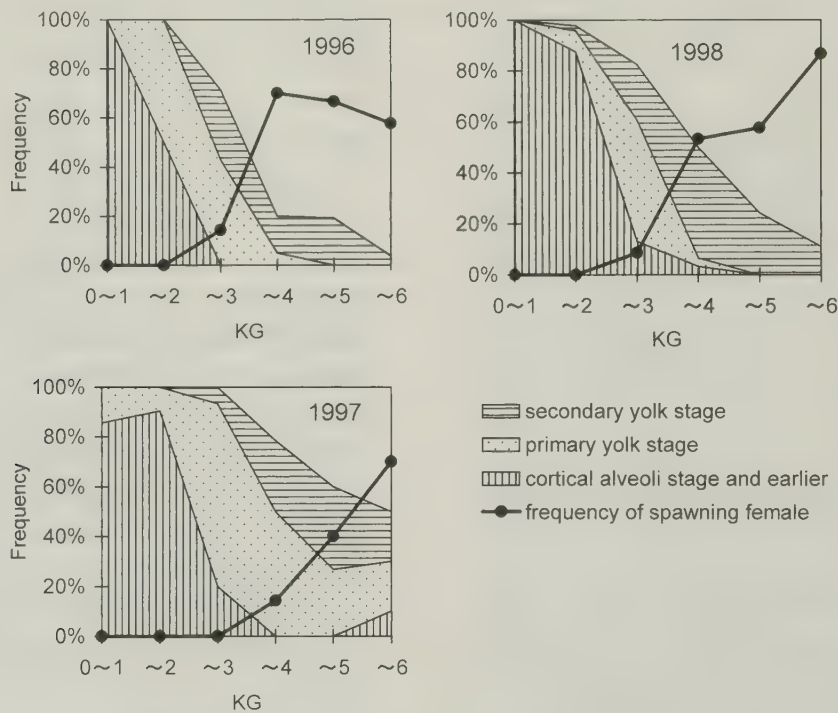


Fig. 7. Frequencies of female chub mackerel at the cortical alveoli stage and earlier, primary yolk stage, secondary yolk stage, tertiary yolk stage or later in the KG class between 1996 and 1998. Closed circles show the frequencies of spawning females in the KG class. According to these results, the female which KG value was 3 or more was considered to be mature.

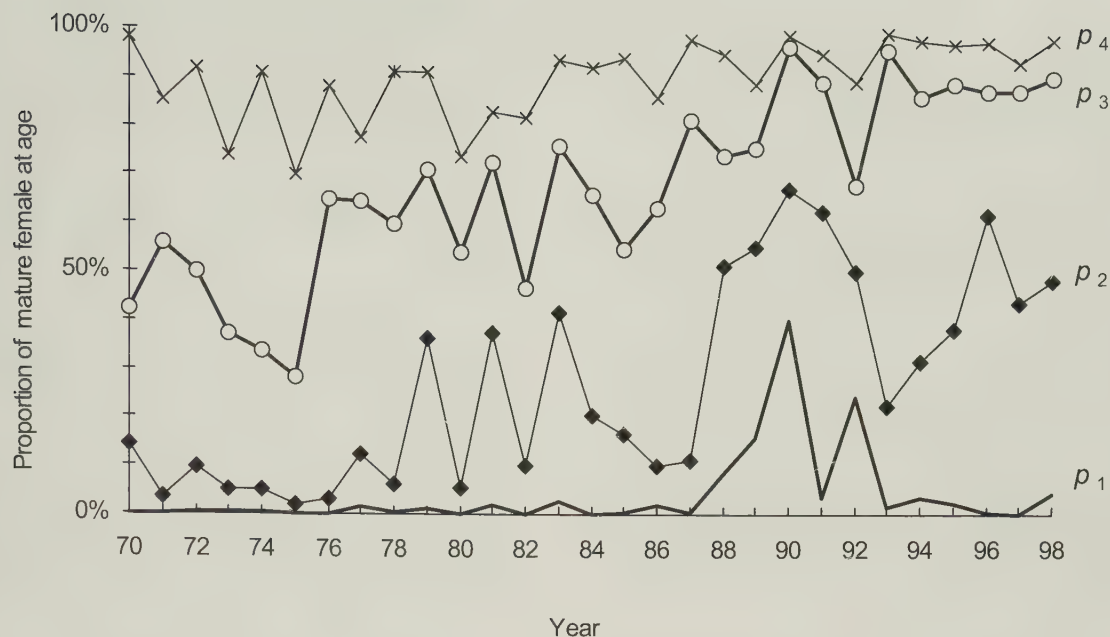


Fig. 8. Interannual changes of the proportion of mature female at ages 1-4 of chub mackerel between 1970 and 1998.

が、このほかに諸外国で行われている調査手法として、魚体を測定する際に卵巣や精巣の外観から成熟状況を判断する方法 (Pollard, 1972; West, 1990), ホルモン等で固定した卵巣を直接顕微鏡で観察し成熟状況を把握する方法 (West, 1990 ; Lowerre-Barbieri, 1996) があり、それぞれ成熟段階に応じた観察基準が確立されている。これらの手法は問題点も指摘されており日本ではほとんど行われていないが、組織切片を作成することに比べれば手間もコストも少ないことから大量に情報が入手でき、組織学的観察との比較を通じて精度を上げていくことが可能ではないかと考えられる。DEPMを目指すのであれば組織学的手法が最適であるが、成熟状況を把握し成熟割合の精度を高め、成熟生態の経年的な変化を把握するなどの目的であれば、これらの手法を定型的な調査に組み込むことも検討してもよいのではないだろうか。

資源管理の観点から

Yatsu *et al.* (2005) は、マサバの加入量と親魚量の比率 (Recruit/Spawning : RPS) の年変動を、マサバRPSの変動をマサバの親魚量、マイワシ資源量、そして冬季伊豆諸島海域の表面水温によって説明し、海洋環境が年々のRPSに影響することを指摘した。マ

サバに限らず、マイワシやカタクチイワシなどの資源量変動は、地球規模の気候変動 (レジームシフト) によって引き起こされるという説は、現在世界的に支持されている。この説を引いてしばしば「資源管理は不可能であり不要である」という議論も生じる。しかし環境要因がどの段階でどのようなメカニズムで加入量を決定付けるかは、多くの魚種でまだわかっていない。それを明らかにするには生活史のあらゆる段階について検討する必要がある。親魚から卵にいたる再生産の過程がどのように環境の影響を受け、さらに加入量変動にどのような影響を及ぼすかについても、わかっていないことが多い。近年、大西洋タラなどでは、産卵親魚資源全体の産卵の能力 (平均的な産卵回数や産卵数、受精率、ふ化率、ふ化後の仔魚の生残率など) は、親魚資源の年齢構成によって異なることが指摘されており (Trripel *et al.*, 1997), このような点を考慮しないと、管理基準は楽観的になるという指摘もある (Murawski, 2001)。もちろん大西洋タラの研究例がそのまま日本産浮魚類にも共通するというわけではなく、むしろ魚種ごとにそれぞれ魚種特有の生殖生態があり、生殖生態研究の成果をそれぞれの管理基準に取り込んでゆくことが重要である。より安全で適切な資源管理を実行するために、生殖生態に関する研究の果たす役割は大きいと考える。

文 献

- 浅野謙治, 1985: マサバ太平洋系群の性成熟, 産卵数および再生産関係に関する資源学的研究. 学位論文, 東京大学, 東京, pp.1-334.
- Dickerson T. L., Macewicz B. J., and Hunter J. R., 1992: Spawning frequency and batch fecundity of chub mackerel, *Scomber japonicus*, during 1985. *Calif. Coop. Oceanic Fish. Invest. Rep.*, **33**, 130-140.
- Heath M. A., 1993: Evaluation and review of the larval surveys in the North Sea and adjacent waters. *Bull. Mar. Sci.*, **53**, 795-817.
- 平松一彦, 2001: 3.VPA(Virtual Population Analysis). 平成12年度資源評価体制確立推進事業報告書－資源解析手法教科書－, 日本水産資源保護協会, 東京, 104-128.
- Hunter J. R. and Lo C. H., 1993: Ichthyoplankton methods for estimating fish biomass introduction and terminology. *Bull. Mar. Sci.*, **53**, 723-727.
- Hunter J. R., Lo N. C. H., and Leong R. J. H., 1985: Batch fecundity in multiple spawning fishes. In: An Egg Production Method for Estimating Spawning Biomass of Pelagic Fishes : Application to the Northern Anchovy, *Engraulis mordax* (ed. R. Lasker), *NOAA Tech. Rep. NMFS.*, **36**, 67-78.
- Hunter J. R. and Macewicz B. J., 1985: Mesurement of spawning frequency in multiple spawning fishes. In : An Egg Production Method for Estimating Spawning Biomass of Pelagic Fishes : Application to the Northern Anchovy, *Engraulis mordax* (ed. R. Lasker), *NOAA Tech. Rep. NMFS.*, **36**, 79-94.
- 加藤充宏, 渡邊千夏子, 2002: マサバとゴマサバの成熟・産卵および食性. 月間海洋, **382**, 266-272.
- 久保田洋, 大関芳冲, 石田 実, 小西芳信, 後藤常夫, 銭谷 弘, 木村 量, 1999: 日本周辺海域における主要浮魚類の卵仔魚分布 (1994~1996), 水産庁研究所資源管理研究報告シリーズA-1, 水産庁中央水産研究所, 横浜.
- Lasker R., 1985: Introduction: an egg production method for anchovy biomass assessment. In : An Egg Production Method for Estimating Spawning Biomass of Pelagic Fishes : Application to the Northern Anchovy, *Engraulis mordax* (ed. R. Lasker), *NOAA Tech. Rep. NMFS.*, **36**, 1-3.
- Lowerre-Barbieri S. K., Chittenden M. E. Jr., and Barbieri L. R., 1996: The multiple spawning pattern of weakfish in the Chesapeake Bay and middle Atlantic bight. *J. Fish. Biol.*, **48**, 1139-1163.
- 森慶一郎, 1992: 小口径ネットによる鉛直曳網. 浮魚類卵・稚仔魚採集マニュアル, 中央水産研究所, 東京, 8-14.
- 村田 修, 岡 佑介, 山本真司, 米倉久司, 家戸敬太郎, 宮下盛, 熊井英水, 2003: 人工孵化マサバの成長, 成熟および産卵. 日本水産学会大会講演要旨集, 2003, 152.
- Murawski S. A., Rago P. J., and Trippel E. A., 2001: Impacts of demographic variation in spawning characteristics on reference points for fishery management. *ICES J. Mar. Sci.*, **58**, 1002-1014.
- Parker K., 1985: Biomass model for the egg production method. In: An Egg Production Method for Estimating Spawning Biomass of Pelagic Fishes: Application to the Northern Anchovy, *Engraulis mordax* (ed R. Lasker), *NOAA Tech. Rep. NMFS.*, **36**, 5-6.
- Pollard D. A., 1972: The biology of a landlocked form of the normally catadromous salmoniform fish *Galaxias maculatus* (JENYNS) 3. Structure of the gonads, *Aust. J. Mar. Freshwater. Res.*, **23**, 17-38.
- Priede I.G. and Watson J. J., 1993: An evaluation of the daily egg-production method for estimating biomass of Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*). *Bull. Mar. Sci.*, **53**, 891-911.
- Shiraishi T., Ohta K., Yamaguchi A., Yoda M., Chuda H., and Matsutama M., 2005: Reproductive parameters of the chub mackerel *Scomber japonicus* estimated from human chorionic gonadotropin-induced final oocyte maturation and ovulation in captivity. *Fish. Sci.*, **71**, 531-543.
- Trippel E. A., Kjesbu O. S., and Solemial P., 1997: Effects of adult age and size structure on reproduction output in marine fishes. In: Chamber, R. C., Trippel, E. A. (Eds.), Early Life History and Recruitment in Fish Populations. Chapman & Haul, London., p.31-62.
- Walker M.G. and Witthames P. R. Bautista de los Santos, I., 1994: Is the fecundity of the Atlantic mackerel (*Scomber scombrus scomridae*) determinate. *SARSIA.*, **79**, 13-26.

- 渡部泰輔, 1970: マサバの発育初期における形態・生態ならびに資源変動に関する研究. 東海水研報, **62**, 1-283.
- 渡部泰輔, 1983: 卵数法. 「水産資源の解析と評価 (水産学シリーズ)」(石井丈夫編), 恒星社厚生閣, 東京, p.9-29.
- 渡邊千夏子, 花井孝之, 目黒清美, 荻野隆太, 木村 量, 1999: 1日当たり総産卵量によるマサバの資源量推定. 日水誌. **65**, 695-702.
- Watanabe Y, Zenitani H., and Kimura R., 1997: Variations in spawning ground area and egg density of the Japanese sardine in the Pacific coastal and oceanic waters. *Fish. Oceanogr.*, **6**, 35-40.
- West G., 1990: Methods of assessing ovarian development in fishes: a review. *Aust. J. Mar. Freshwater Res.*, **41**, 199-222.
- Yamada T., Aoki I., and Mitani I., 1998: Spawning time, spawning frequency and fecundity of Japanese chub mackerel, *Scomber japonicus* in the waters around the Izu Islands, Japan. *Fish. Res.*, **38**, 83-89.
- Yatsu A., Watanabe T., Ishida M., Sugisaki H., and Jacobson L. D., 2005: Environmental effects on recruitment and productivity of Japanese sardine *Sardinops melanostictus* and chub mackerel *Scomber japonicus* with recommendations for management. *Fish. Oceanogr.*, **14**, 263-278.
- 谷津明彦, 渡邊千夏子, 西田 宏, 三谷卓美, 2004: 平成16年マサバ太平洋系群の資源評価. 我が国周辺水域の漁業資源評価 (魚種別系群別資源評価・TAC種) 第一分冊, 水産庁, 98-143.

マアジとマイワシの繁殖生態

西田 宏*

Reproductive Biology of Japanese Jack Mackerel *Trachurus japonicus* and Japanese Sardine *Sardinops melanostictus*

Hiroshi NISHIDA*

Abstract A comprehensive review of the spawning regions and season in the waters around Japan, the maturity cycle and the female batch fecundity of Japanese jack mackerel and Japanese sardine was made in this paper. The maturity rate and the fluctuation for young cohorts (especially 1 year old fish) of these species are one of the most important factors especially for the estimation of the spawning stock biomass.

Key words: jack mackerel, Japanese sardine, batch fecundity, maturity rate, spawning stock biomass

親魚の成熟特性など繁殖生態について解析を進めることは、産卵量や親魚量の豊度のみならず、産卵海域からの加入過程を明らかにする上で重要である。本稿では、小型浮魚類のマアジ *Trachurus japonicus* とマイワシ *Sardinops melanostictus* について、その繁殖生態に関する既往知見を整理し、近年の個体群動態との関係から、どのような研究展開が急がれるかを論議する。

I. マアジの繁殖特性

1) 産卵海域・産卵期

マアジは、未成魚期には東シナ海を中心にして日本海並びに本州太平洋側の沖合域まで広域的な分布を示すが、成魚期には陸棚上の底層や沿岸域が主分布域となり、かつ定着性が強くなる。主産卵場は東シナ海にあるが、日本海側や太平洋側の沿岸域にも小規模な産卵群が存在し、資源量水準の低い年代においては後者の割合が高くなる（古藤，1990）。東シナ海におけるマアジの産卵盛期は南部（東経125度以西，北緯30度以南の海域）で1～2月，中部（北緯30度周辺の水深200mを

基準とした陸棚内縁部）で2～3月，九州西岸域から対馬周辺においては4～5月であると推定されている（掘田と中嶋，1971）。産卵海域の中心は季節の進行とともに北東方向に移動し，東シナ海全体としては冬季から春季の長期間にわたり産卵が継続すると考えられる。一方，太平洋側とそれに付属する内海域においては，豊後水道（薬師寺，2001），宿毛湾（阪地，2001），紀伊水道の外域（阪本ら，1986），伊豆近海（澤田，1974），相模湾（木幡，1972）などで，また日本海側の中東部においては若狭湾（畔田と落合，1963）や新潟沿岸（西田と長谷川，1994）などで，成熟魚に関する報告が見られることから，少なくともこれらの海域でも地域的な産卵場が形成されると考えられる。これらの報告で推定された産卵期は，東部に向かうほど遅くなり，また1～2ヵ月程度の短期間になるが，日本周辺海域での全体としては11～8月と半年以上にわたる。

東シナ海の産卵海域は，成魚の分布（掘田と中嶋，1971）に基づけば，200m等深線を基準とした陸棚の内側域全体に及ぶ広域と考えられる。孵化後間もない体長3mm未満の仔魚の分布（佐々と小西，2002）から見ても，主産卵海域は水深が100～200mに対応する範

用であり、陸棚の外側での産卵量は少ないものと推察される。一方、釣り・定置網などの沿岸域の漁法によっても成熟魚が得られることは知られており、これらのことを考え合わせると、主産卵海域は陸棚上の海底付近ではあるが、それはごく沿岸域も含む広範囲に及ぶと考えられる。

なお、産卵海域の表面水温は、成熟親魚の分布から15～25℃の広範囲に対応する（依田と佐々，2004）が、産卵期に対応する水温に関する多くの知見から総合的に考えると、19～21℃が中心になると考えられる。これは、落合ら（1984）における孵化の適温18～24℃とも整合する。産卵時刻については沿岸漁具による漁獲時刻と、吸水卵径との比較から、夜明け前と考えられている（西田，未発表）。

2) 成熟年齢・体長

既往の知見においては、成熟雌魚は2歳から産卵を行うものが現れ、3歳で全ての個体が産卵を行うとされる（横田と三田，1958；真子と濱田，1984など）。一方で、1歳から産卵に関与する可能性も指摘されてきた（川崎，1959；深滝と渡辺，1960など）。特に飼育実験下では、1歳で尾叉長19cmに達し、熟卵を持つことが示された（落合ら，1983）。これらの知見を考え合わせると、成熟は年齢よりも体サイズに依存すると考える方が妥当である。

東シナ海における最小成熟体長は、漁獲量の多い1960年代前半を含む1955～1969年の標本・生殖腺重量データを用いた解析（掘田と中嶋，1971）により、産卵期による違いがあるものの、尾叉長18.5～20.7cmであると報告された。また、漁獲量の増大期にあたる1983～1997年の標本・データを用いた報告（大下，2000）では、尾叉長19cmから産卵すると推定されている。

なお、体長と成熟率との関係についても、資源量水準により変動すると考えられる。例えば1966年以降の漁獲量水準が減少した年代においては、尾叉長22～23cmモード群における成熟率が上昇した（掘田と中嶋，1971）。なお、2000～2001年の標本観察結果では、尾叉長23cm以上の成熟雌魚が産卵すると推定されている。体長別成熟率は、経年的にモニタリングすることが必要である。

3) 卵巣の発達とバッチ産卵数

卵巣内で発達中の卵の卵径は、大下（2000）に核移動期以降のデータを補完すると、周辺仁期には概ね0.2mm未満であったものが、卵黄蓄積期には0.2～0.5mm（0.4mm台にモードを持つ組成）に、さらに核移動期以降0.65～0.72mmに発達し、産卵直前と考えられる吸

水卵では0.79～0.89mmになると推定された。なお、吸水卵の卵径は1960年代を中心とした標本によって0.8～1.0mmと報告されている（掘田と中嶋，1971）が、卵径の年代間での変動を明らかにするのに十分な情報は無い。

成熟度の簡便な判定方法として用いられる成熟度指数（GSI：生殖腺重量／体重×100）と卵径組成との関係を見ると、GSI＝3以上の個体において核移動～吸水卵期に対応する卵径組成が出現することから、成熟もしくは産卵中の個体の指標になると考えられる（依田ら，2004）。

成熟雌魚は、1個体あたり50～500千粒を孕卵し、卵巣内卵径組成において複数のモード組成が見られることから、1産卵期に少なくとも2回以上は産卵すると推定された（三浦ら，1958；山田，1958）。このように多回産卵する魚種では、年間の産卵数が産卵期前には確定していないので、成熟雌魚における産卵特性値としては、1回当りの産卵数（バッチ産卵数）が用いられる。バッチ産卵数は卵巣内において吸水卵を計数することにより得られる。東シナ海における年齢別バッチ産卵数を求め、3年間、2年級群間で比較した結果、平均的なバッチ産卵数は、尾叉長22～26cmの2歳魚で約21千粒、23～29cmの3歳魚で約31千粒との推定結果が得られた。また、年間、年級群間での大きな差はなかった（中央水産研究所「研究のうごき：産卵場環境とマアジ雌魚群の成熟特性の関係」）。

4) 産卵頻度と年周期

産卵頻度を正確に把握するには、飼育実験や内分泌学的アプローチが望ましいが、産卵群における産卵直前もしくは直後個体の出現頻度により、概ねの産卵頻度を推定することができる。吸水卵もしくは排卵後濾胞が観察されれば、産卵直前もしくは直後であると判定できるので、これにより九州近海、相模湾、日本海側沿岸域（鳥取・新潟）の産卵頻度を求めた。2年間におけるそれぞれの海域での産卵頻度（中央水産研究所「研究のうごき：産卵場環境とマアジ雌魚群の成熟特性の関係」）によると、九州近海においては産卵期を通じて産卵頻度が高く維持されることが明らかだった。このことは、1個体が活発に産卵することと、成熟個体が入れ替わることにより産卵群が維持されることの両方の可能性によるが、九州近海においては継続的に産卵群が形成されることがうかがえる。

年齢や体長別で得られた親魚資源量から、産卵量水準を推定するためには、1回当たりの産卵数と産卵頻度に加えて、産卵回数を解明することが必要であるが、現時点では、同一個体が1産卵期に何回産卵するか

についての確かな知見は得られていない。産卵回数については、今後の生理学的な知見の蓄積が必要である。

マアジでは、年齢と成長の関係を得るために、鱗もしくは耳石（扁平石）による年齢査定が行われてきた。特に耳石については縁辺成長率の解析から、年輪と考えられる不透明帯の形成時期は産卵期に対応することが示されており（今岡, 1967など）、これに基づけば、産卵期の間隔を推定することができる。平均的な成長曲線に適合させた結果（西田と長谷川, 1994）と、個々の報告（中嶋, 1982; 阪本ら, 1986; 西田と長谷川, 1994など）での年輪径の分散から推定する限り、産卵に適した季節が長い海域においても、平均的には産卵期は1年程度の周期性があるものと考えられる。

II. マイワシの繁殖特性

1) 産卵海域・産卵期

マイワシは長期的に大きな資源量変動を繰り返してきたことは良く知られている。1900年前後と1950年前後の資源低水準期には、日本海側では能登、九州西岸、太平洋側では足摺、房総海域を中心とする比較的小規模の集団を形成していた（石垣ら, 1959）が、1970～1980年代の資源増加期にはこれらの産卵海域は拡大し統合されていった（和田, 1988; 黒田, 1991）。1976年には薩南海域の産卵場が形成されはじめ、その後南部沖合域に拡大した（小西, 1983）。1988年以降資源の急減に伴って、産卵海域も急速に縮小し、1992年には薩南産卵場は消滅し、最近においては、太平洋側では土佐湾を中心とする小規模なものになっている（中央水産研究所等, 中央ブロック卵稚仔・プランクトン協議会）。また、日本海側での産卵量水準も極めて低水準にある（水産総合研究センター「東シナ海・日本海のいわし類の現在：マイワシの産卵調査の概要と日本海における卵豊度の推移」）。

太平洋側のマイワシは2～4月を中心に産卵するが（黒田, 1991）、海域によっては秋季から産卵を開始する。関東近海で資源低水準～増加期にあたる1960～1977年には、大羽イワシ（成魚）は総じて2～4月に産卵した（平本, 1981）が、資源減少期に入ってから9月に産卵する群が出現した（工藤, 1991）。土佐湾では資源水準に関係なく産卵期が10月から4月の長期に及ぶ（小西, 1980）。なお、マイワシ個体の産卵期間は、天然魚（石田ら, 1959）では卵巣の組織学的解析により1ヵ月程度と推定されており、飼育魚（松原, 1991など）では3ヵ月であった。

マイワシが産卵に関与するには、生殖腺が成熟するほぼ半年前に脂肪量が最高になっていることが必須条

件であると考えられている（平本, 1981）。これは、大回遊する群の産卵期の中心が2～3月であることを良く説明するが、夏季も顕著な北上回遊を示さない滞留群（工藤, 1991）についても、肥満度が早い段階で最高になるために10～11月の早期産卵が可能になっている、と説明できる。土佐湾で1989～1997年11月に採集された雌魚の肥満度と生殖腺指数の関係（森本, 1998）から、肥満度10以上の栄養状態の良い個体のみ早期産卵を行うことが示唆されている。

産卵海域の水温は、生息水温（中井, 1962）等多くの知見から、15～17℃を中心とする水温帯にあると推察される。なお、飼育実験では18℃では発達の進んだ卵の退行が起こったとされている（松原, 1991）ことから、高水温での産卵は加入にとって不適であると推察される。

産卵開始時刻については、天然魚の卵母細胞に関する組織学的解析（森本, 1993）から21時と推定されており、これは伊東ら（1961）、松浦（1992）、内分泌学的解析（白石, 1992）などの結果とも整合している。

2) 成熟年齢・体長

資源の低水準期にあたる1950年代においては、九州西岸では産卵親魚群の大部分は2～3歳であり、日本海北部でも2～4歳が主体であったが、足摺などの海域では1歳でほとんどが産卵した（石垣ら, 1959）。房総海域では、資源の増加期にあたる1970年代においても1歳で産卵する個体がいたが（平本, 1981）、1980年代においては3歳以上で初めて成熟した（平本, 1985）。資源が減少した1994年3～4月に伊豆近海で吸水卵を持つ1歳魚が採集され、再び1歳魚が産卵に関与することが示された（青木, 1998）。土佐湾でも1994年3月以降吸水卵を持つ1歳魚が採集され始めた（森本, 1998）。このように、初回産卵年齢は資源量により変動する。体長については、房総海域の11～12月生まれの早期発生群は、翌年の夏秋季には肥満度が13～14と最高に達し、体長も14～15cmとなり、その冬にかけて成熟し産卵することが可能になる（平本, 1985）。一方、3～4月の後期発生群は、夏秋季には肥満度が8～10と低く、翌年の3～4月には体長15cmには達しているものの生殖腺が未熟のままで産卵しない（平本, 1985）。このように、体長と成熟の関係は、発生・成長時期の違いにより異なるといえる。

3) 卵巣の発達とバッチ産卵数

マイワシにおいて、成熟時の卵巣重量は地理的に異なる（石垣, 1959; 中井と宇佐美, 1962; 伊東, 1961）。マイワシの生殖腺の発達には、夏季を中心とした索餌期の栄養蓄積が重要な要因であることから（鶴田, 1987）、

北方の餌料環境の良い海域を索餌海域として利用する群ほど、成熟に貢献する栄養蓄積が大きい（森本，1998）ことが考えられる。

バッチ産卵数については，1940・50年代における約37000粒との報告（中井，1962；宇佐美，1964）がある。1991年の薩南海域においては，平均33900粒（青木，1998）であった。また，1992年2月の土佐湾沿岸域（小回遊型）と紀伊水道沖合の黒潮フロント域（大回遊型）で採取された個体で，前者は平均1.9万粒，後者は4.0万粒であり，後者が多かった（Morimoto，1998）。平均肥満度も後者が高いことから，生活型の違いによる夏季の栄養蓄積が，バッチ産卵数に影響していると考えられる（森本，1998）。なお，1歳魚と見られる16 cm台の個体では，バッチ産卵数は8400～22400粒との結果も得られている（青木，1998）。

Ⅲ マアジ・マイワシの繁殖生態研究で解明が急がれる課題

マアジとマイワシの太平洋側の資源を題材に検討する。マアジの年齢別漁獲尾数の計算結果（石田ら，2005）によると，年間における総漁獲尾数の4割以上が0歳魚であり，加入がよい年には7割以上にもなる。高齢魚は定着性・底棲性が強くなり，多獲性の漁業での対象にならないことから，ここでは過小評価になるが，年々の0歳魚の加入量変動が資源変動に与える影響は大きいことは容易に推察される。東シナ海から日本沿岸へのマアジの加入機構については現在，水産研究所主体での共同研究が進んでおり，加入と関係づけられる黒潮と対馬海流による輸送環境を再現できる高水準のモデルが開発されつつある。このモデルによると，沿岸に加入することなく，黒潮により速やかに黒潮統流域に流去する群がかなり多いことが推察される。しかしながら，マイワシやカタクチワシと異なり，日本周辺沿岸域への加入という点では効率的ではない。見方を変えれば，漁場とも重なる陸棚域への加入に成功した群が次世代の再生産に関与していくことにより資源が維持されていると考えられる。マアジでは，バッチ産卵数のような成熟特性値については，年や年級群による変動は大きくないが，成長の変化により，同じ年齢群であっても産卵へ関与する割合が変化することが推察される。満2歳以上の個体ではほぼ確実に産卵に関与すると推察される一方，満1歳での成熟率は年代などにより変化する。資源量の大きい1歳段階における成熟率（産卵への貢献度）は，産卵親魚量の量的評価に直接的に大きい影響を与える。このことから，特に満1歳に至るまでの成長と成熟過程について追究

することが必要と考えられる。マアジは飼育実験の例も多く，内分泌学のアプローチも比較的容易と考えられることから，今後，成熟機構に関する一層の研究進展が望まれる。

マイワシについては，現在の資源量が約10万トン台と全盛期の1%未満になっており（西田，2005），すでに房総以北海域への顕著な北上・南下回遊は見られなくなっている。一方で，小回遊型の産卵海域として土佐湾産卵場は存続しており，このような海域での産卵親魚の分布様式と，そこからの加入過程の調査を継続することが，資源増加期における関東近海での産卵場形成へとつながり，さらには資源回復の兆候を見逃さないことになると考える。マイワシでは小回遊型，大回遊型での生活型による栄養蓄積と成熟特性値の違いが大きいと考えられる。また，資源量水準に対応した成長や索餌生態の変化により，同じ年齢群であっても，産卵へ関与する割合が変化することが推察される。小回遊型のような定着性の個体群の動態を評価するには，成長履歴の解明を進めるアプローチも有力であるが，同時に栄養蓄積から産卵に移行するタイミングについて追究しておくことが必要と考える。また，マアジと同様に，年齢別成熟率は年代などにより変化する。産卵親魚量と，そこから生み出される新規加入量の関係は，個体群動態を検討する上で基本的な検討対象であるが，年齢別成熟率の変動は，産卵親魚量の量的評価に直接的に大きい影響を与える。このことから，年齢別成熟率について生活型にかかわらず追究することが望ましい。日本におけるマイワシを対象とした研究の歴史は長く，また継続的に実施されてきたことにより，資源変動のメカニズムがかなり解明されてきた。資源低水準期の今日においてもその継続性を絶つことのないよう研究を進めることは，年代間で生物学的特性の比較を行う研究のために責務と考える。

文 献

- 青木一郎，1998：産卵，マイワシの資源変動と生態変化（渡邊良朗・和田時夫編），恒星社厚生閣，pp54-64。
- 畔田正格，落合 明，1963：若狭湾産マアジの系群に関する研究。日水誌，**28**，967-978。
- 深滝 弘，渡辺和春，1960：対馬暖流域におけるマアジ資源の加入過程に関する考察。日水研年報，**6**，87-103。
- 平本紀久雄，1981：マイワシ太平洋系群の房総およびその周辺海域における発育と生活に関する研究。千葉水試研報，**39**，1-127。

- 堀田秀之, 中嶋純子, 1971: 西日本海域におけるマアジの群構造に関する研究-V 成熟状況からの解析. 西水研報, **39**, 33-50.
- 今岡要二郎, 1967: アジの生態学的研究. マアジの耳石に現れる輪紋の形成期について. 島根水試研報, **2**, 1-9.
- 石田 実, 三谷卓美, 阪地英男, 2005: 平成16年マアジ太平洋系群の資源評価, 我が国周辺水域の漁業資源評価(1), 水産庁増殖推進部ほか, pp55-71.
- 石田力一, 鶴川正雄, 有田節子: マイワシ *Sardinops melanosticta* (Teminck et Schlegel) の産卵回数について(予報). 北水研報, **20**, 139-144.
- 石垣富夫, 加賀吉栄, 北野 裕, 佐野, 1959: 沿岸重要資源共同研究経過報告, 北水研, 187pp.
- 伊東祐方, 1961: 日本近海におけるマイワシの資源生物学的研究. 日水研報, **9**, 1-227.
- 伊東祐方, 渡辺和春, 西村三郎, 笠原昭吾, 1954: 能登海域におけるマイワシの産卵時刻と夜間行動. 日水研年報, **1**, 1-16.
- 川崎 健, 1959: マアジの生態についての基礎的研究. 東北水研報, **13**, 95-107.
- 木幡 孜, 1972: 相模湾産重要魚種の生態-II. マアジ *Trachurus japonicus* (TEMMINCK et SCHLEGEL) について. 神奈川水試相模湾支所報告(昭和46年度事業報告), **12**, 55-72.
- 古藤 力, 1990: 太平洋岸におけるマアジ資源の動向について. 水産海洋研究会報, **54**, 47-49.
- 小西芳信, 1980: 土佐湾におけるマイワシ卵・仔稚魚の補給経路. 水産海洋研究, **36**, 47-50.
- 工藤孝浩, 1991: 相模湾におけるマイワシ秋シラスの急増について. 神奈川水試研報, **12**, 73-82.
- 黒田一紀, 1991: マイワシの初期生活期を中心とする再生産過程に関する研究. 中央水研報, **3**, 25-278.
- 真子 渺, 濱田律子, 1984: 東シナ海および日本海南西域におけるマアジ資源 I 漁獲量変動と生物学的特性値. 資源調査研究連絡, **75**, 1-21.
- 松原孝博, 1991: マイワシ, 海産魚の産卵・成熟リズム(廣瀬慶二編), 恒星社厚生閣, pp113-124.
- 松浦修平, 1992: マイワシの生殖周期, 浮魚資源-その再生産と加入機構, 月刊海洋, **24**, 289-294.
- 三淵英弘, 岸本源治, 塩見元晶, 相川広秋, 1958: マアジの年令, 成長および成熟. 対馬暖流塊開発調査報告, **4**, 133-144.
- 森本晴之, 1993: 土佐湾のマイワシにおける卵母細胞の吸水完了および産卵開始時刻. 日水誌, **59**, 7-14.
- Morimoto H, 1998: Relationship between batch fecundity and egg size in Japanese sardine *Sardinops melanostictus* in Tosa bay and Kii channel, southwestern Japan from 1990-1993. *Fish. Sci.*, **64**, 220-227.
- 森本晴之, 1998: 成熟, マイワシの資源変動と生態変化(渡邊良朗・和田時夫編), 恒星社厚生閣, pp45-53.
- Nakai J, 1962: Studies of influences of environmental factors upon fertilization and development of the Japanese sardine eggs.-with some reference to the number of their ova. 東海水研報, **9**, 109-150.
- 中井甚二郎, 宇佐美修造, 1962: マイワシ成熟度の季節的变化. 東海水研報, **9**, 151-171.
- 中嶋純子, 1982: 西日本海域におけるマアジの成長と年齢について. 西水研報, **57**, 47-57.
- 西田 宏, 長谷川誠三, 1994: 新潟沿岸におけるマアジ産卵群の年齢と成長. 日水研報, **44**, 73-90.
- 西田 宏, 2005: マイワシの資源評価〜太平洋側の資源を中心に〜, 農林統計調査, 2005(12),
- 落合 明, 睦谷一馬・榎田 晋, 1983: 養殖1歳マアジの成長, 成熟および人工産卵について. 日水誌, **49**, 541-545.
- 落合 明, 榎田 晋, 谷口順彦, 1984: 稚仔魚の減耗と餌料条件. MRPプログレスレポート, マアジ, **2**, 31-37.
- 大下誠二, 2000: 東シナ海におけるマアジの成熟特性に関する研究. 西海ブロック漁海況研報, **8**, 27-33.
- 阪地英男, 2001: 高知県宿毛湾におけるマアジ(「きあじ」タイプ)の産卵期と成熟年齢. 黒潮の資源海洋研究, **2**, 39-44.
- 阪本俊雄, 武田保幸, 竹内淳一, 1986: 沿岸重要資源の管理に関する研究(概報). 昭和59年度和歌山県水産試験場事業報告, 43-52.
- 佐々千由紀, 小西芳信, 2002: 東シナ海におけるマアジ仔稚の分布と輸送. 月刊海洋, 号外**31**, 92-98.
- 澤田貴義, 1974: 伊豆近海におけるマアジの成長と成熟について. 静岡水試研報, **7**, 25-31.
- 白石 学, 1992: マイワシ親魚の成熟と産卵, 浮魚資源-その再生産と加入機構, 月刊海洋, **24**, 284-288.
- 鶴田義成, 1987: イワシ類の再生産力-資源変動と関連して-. 水産海洋研究, **51**, 51-54.
- 和田時夫, 1988: 道東海域におけるまき網対象マイワシ資源の来遊動態に関する研究, 北水研報告, **52**, 1-138.
- 薬師寺房憲, 2001: 豊後水道におけるマアジ *Trachurus japonicus* (TEMMINCK et SCHLEGEL) の成熟と

- 相対成長. 黒潮の資源海洋研究, **2**, 17-22.
- 山田鉄雄, 1958: アジに関する研究. 対馬暖流開発調査報告, **4**, 145-176.
- 依田真里, 大下誠二・檜山義明, 2004: 漁獲統計と生物測定によるマアジ産卵場の推定. 水産海洋研究, **68**, 20-26.
- 依田真里, 佐々千由紀, 2004: マアジの産卵場の特定と海洋環境, マアジの産卵と加入機構—東シナ海から日本沿岸へ—(原 一郎・東海 正編), 恒星社厚生閣, pp19-30.
- 横田滝雄, 三田典子, 1958: 太平洋南区のアジ, サバ類の研究に関する諸説. 南海水研報, **9**, 1-59.

足摺岬周辺海域のゴマサバの成熟と水温

梨田一也^{*1}・三谷卓美^{*2}

Maturation of the Spotted Mackerel *Scomber australasicus* in the Waters off Ashizuri Cape, Pacific Coast of Southern Japan, with Reference to the Habitat Water Temperatures

Kazuya NASHIDA^{*1} and Takumi MITANI^{*2}

Abstract Adult spotted mackerel *Scomber australasicus* were caught by vertical long lines offshore of Ashizuri Cape, Pacific coast of southern Japan, from January 2000 to November 2004. The spawning seasons of this fish were examined with gonad index and histological study of the female by monthly samplings. In this area, the gonad index values rapidly increased from late February, and peaked between late February and mid March. These periods are thought to be the main spawning season, and the spawning season ends in June. By using biotelemetry system, the vertical movement pattern of spotted mackerel was also examined in the main spawning season. The fish tracked swam between the surface and 50m depth layer with frequently vertical migrations. From February to March, the water temperatures were almost the same as 17 to 18 °C, because of the vertical mixing. In the end of the spawning season in June, the thermocline was formed at 50m depth layer and the water temperature were from 20 to 22 °C at this layer. This range of water temperature might be the upper limit of the spawning season for the spotted mackerel.

Key words: spotted mackerel, spawning season, histology, biotelemetry, water temperature

緒 言

ゴマサバはマサバに比べると南方性かつ沖合性で、主要な産卵場は東シナ海にあり、薩南海域から四国太平洋沿岸海域、さらに伊豆諸島周辺海域にも産卵場があることが知られている（三谷ら、2002）。日本周辺海域における本種の移動・回遊に関する知見は、主に東シナ海から日本海にかけて1950年代に標識放流調査により得られている（牟田ら、1958）。一方、太平洋側におけるゴマサバの長距離の移動・回遊に関する知見は

近年、少しずつ集積されつつある（神奈川県水産総合研究センターら1998、1999；千葉県水産試験場ら、2000；千葉県水産研究センターら、2001、2002、2003、2004；梨田ら、2006、印刷中）。梨田ら（2006、印刷中）は、足摺岬周辺海域においては、周年にわたってゴマサバ成魚が漁獲されることから移動性の少ない「瀬つき群」（大型魚主体）の存在を想定し、産卵期前において東方から産卵群が新たに足摺岬周辺海域に来遊し、産卵期の終了とともに、索餌のため東方への移動を開始することを明らかにした。

2006年1月6日受理 (Accepted on January 6, 2006)

^{*1} 中央水産研究所高知黒潮研究拠点 〒780-8010 高知市桟橋通6-1-21 (National Research Institute of Fisheries Science, Kochi Kuroshio Research Laboratory, 6-1-21 Sanbashi-dori, Kochi, 780-8010, Japan)

^{*2} 中央水産研究所 〒236-8648 横浜市金沢区福浦2-12-4 (National Research Institute of Fisheries Science, 2-12-4 Fuku-ura, Kanazawa-ku, Yokohama, 236-8648, Japan)

ゴマサバの産卵生態についての詳細な情報は未だ明らかではない。白石ら（2004）は、近縁種のマサバ天然魚を用いて人工飼育下において産卵期に生殖腺刺激ホルモンを人工投与することにより、第3次卵黄球期にある個体は約33時間後に排卵することを実験的に実証した。しかし、ゴマサバについて自然条件下における成熟と水温に関する研究は少ない。著者らは、2000年4月から2004年11月まで足摺岬周辺海域で漁獲されたゴマサバ成魚を周年にわたり毎月1回採集し生物測定を行い、これらをもとに生殖腺熟度指数と卵巣切片の組織学的観察から、当該海域における本種の産卵期についていくつかの知見が得られたので報告する。

ゴマサバの標識放流以外の行動生態に関する知見は数少ないが（梨田ら，2000），本種の産卵場の一つと考えられる足摺岬周辺海域において、産卵盛期の1999年2月下旬にバイオテレメトリーにより本種の行動特性を調べ、本種がどのような水温環境の中で産卵をしているのかを示唆する事例が得られたので報告する。

なお、本研究は、水産庁委託事業「我が国周辺水域漁業資源調査」の一環として行われたものである。

試料と方法

足摺岬周辺海域におけるゴマサバ標本については、2000年4月から2004年11月まで毎月1回、高知県土佐清水市土佐清水漁業協同組合（現、土佐清水市漁業協同組合）所属の立て縄漁船が早朝に漁獲して水揚げされたゴマサバ成魚（特大及び大銘柄、尾叉長（以下、FL）35～44cmをその日の内に冷蔵保存し、翌朝までに中央水産研究所高知庁舎（現、高知黒潮研究拠点）に送付されたものを標本として用いた。標本は到着後、直ちに尾叉長（mm）、標準体長、体重、生殖腺の雌雄判別および重量（GW：g）の測定を行い、生殖腺熟度指数KG値（ $=GW \times 100 / FL^3$ ）を算出した。生殖腺は10%中性ホルマリンで固定し、後に外部委託して組織切片を作成し、常法によりヘマトキシリン・エオシン染色を施した。その中で、2001年12月から2003年1月にかけて採集し作成したゴマサバ卵巣組織切片について、原則として毎月任意の個体について光学顕微鏡で組織切片をデジタルカメラを用いて撮像し、画像はデジタルファイルで保存した。卵母細胞の発達段階の記載については、松山と松浦（1982）及び村山ら（1995）に従った。

バイオテレメトリーを用いた行動特性調査は、足摺岬周辺海域においては1999年2月中旬に、立て縄漁船で漁獲したゴマサバを一旦、土佐清水漁業協同組合の15トン容量のコンクリート製活魚槽に収容したものの

中から活力のあるものを選択して実施した。背骨型標識のナイロン製の紐を人工血管のチューブで包み抗生物質を塗布したものを、エタノールで消毒した中空パイプに挿入し、肛門後方の筋肉中に貫通させ輪を作り、この輪に撚り戻しをつけて約3cmの長さのテグス（ケプラート、よつあみ社製、日本）によりカナダのVEMCO社製発信器（V16TP、長さ62mm、直径16mmの円筒形、空中重量24.2g、海水中重量約11g）を曳航式で装着した。装着魚の水槽中での遊泳行動は、他の個体と大きな差は認められなかった。この装着魚を調査船「第5開洋丸」（日本海洋株式会社所属、141トン、1,800馬力）の5トン容量のキャンバス水槽に搬入し、足摺岬沖合の海域に放流し追跡調査を行った。用いたバイオテレメトリーシステムはVEMCO社製のVR28Tで、追跡魚の遊泳水深と環境水温を3秒ごとにリアルタイムに取得することが出来る。位置情報は、調査船の位置データをJRC社製のD-GPSで取得し、遊泳水深、環境水温及び位置情報はIBM社製のパソコン（ThinkPad）のハードディスクにリアルタイムに取り込んだ。追跡魚のFLは約40cmで、放流調査は2月23日午前11時15分、水深94mの海域で開始し、当日の午後9時30分頃まで約10時間追跡した。放流時の表面水温は、18.0℃であった。

足摺岬周辺海域の表層から中層（200m）までの水温については、2000年1月から2003年2月までの資料を高知県水産試験場（2001，2002，2003，2004）の沖合定線データから抜粋し、水温の鉛直分布の季節変化を調べた。

結 果

Fig. 1 に、足摺岬周辺海域で漁獲されたゴマサバ雌のKG値の季節変化を示した。これを見ると、7月から翌年の1月にかけて低い値が続くが、2月に急速に増大し、2月下旬から3月にかけてピークを形成した。4月以降次第に減少するが5月でもKG値が5以上の個体が残っていた。しかし6月以降になると急速に減少した。

Fig. 2 に、2002年3月19日のFL409mm、KG値11.86の個体の卵巣組織切片を示した。第3次卵黄球期の細胞がみられたものの、産卵の証拠である排卵後濾胞は確認できなかった。しかし、同時に採集された他の個体の組織切片では、一部に排卵後濾胞と考えられる痕跡が見られたことから、この時期産卵を行っていることが組織学的にも確認された。一方、Fig. 3 に2002年6月13日の卵巣の組織切片を示したが、退縮卵も見られるが排卵後濾胞も一部にみられた。また、多くの卵母

細胞は退行していた。

Fig. 4 に、足摺岬沖定点の水温鉛直分布の季節変化を示した。この定点はゴマサバ漁場のすぐ近くにあり、黒潮の離接岸により水温状況は大きく変化する。1～3月の鉛直混合期において水深100m以浅は16～20℃前後、4月以降昇温し始め、9月には表層付近で27℃となった。しかし、水深100m層付近では年によって変動はあるものの周年を通じて16～20℃の範囲内にあった。また、産卵終息期にあたる6月の水深50m層の水温は20～22℃であった。

Fig. 5 に、足摺岬沖で行ったバイオテレメトリーを用いたゴマサバの追跡調査の結果を示した。追跡時間は約10時間と短い、表層から水深50m層付近で鉛直

移動を繰り返しながら遊泳した。この追跡期間中に、この個体が経験した水温は約17.5～18.5℃台ではば一定であった。

考 察

本報告で足摺岬周辺海域のゴマサバについて得られた結果によると、産卵盛期は2月下旬から3月中旬で、終息は6月頃と考えられる。一方、千葉県水産試験場ら（2000）、千葉県水産研究センターら（2001, 2002, 2003, 2004）が関東近海のゴマサバの成熟状態を調べた結果では、ゴマサバにおいてKG値が5以上に増加する時期が本格的な産卵期へ移行する時期と一致しており、

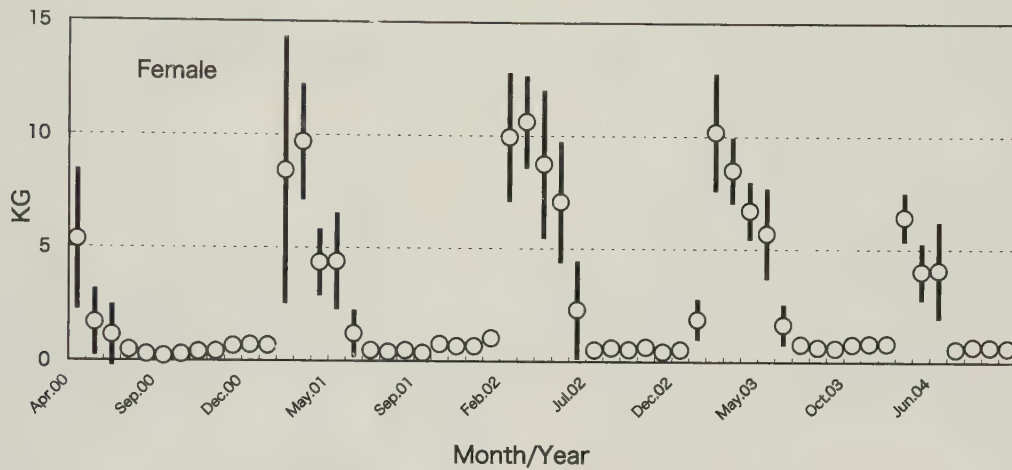


Fig. 1. The average (circles) and SD (vertical lines) of gonad index (KG) of female spotted mackerel sampled monthly off coast of Ashizuri Cape from April 2000 to October 2004.



FL409mm, GW81.14g March 19, 2002

Fig. 2. The ovary histology of female spotted mackerel (caught on March 19, 2002, FL:409mm, gonad weight:81.14g, KG:11.86). Pyg: primary yolk globule stage, Syg: secondary yolk globule stage, Tyg :tertiary yolk globule stage.



FL408mm, GW14.5g, June 13, 2002

Fig. 3. The ovary histology of female spotted mackerel (caught on June 13, 2002, FL: 408mm, gonad weight: 14.50g, KG: 2.13). Pof: postovulatory follicle.

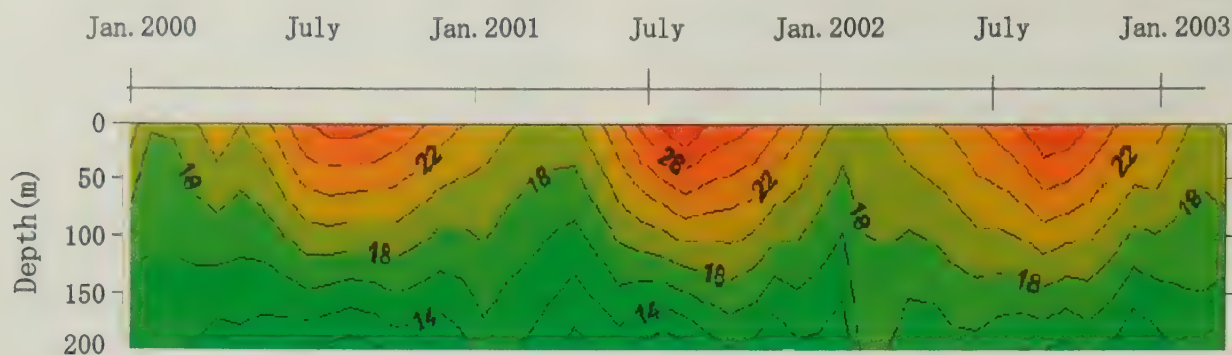


Fig. 4. The vertical water temperature profile at offshore station off Ashizuri Cape from January 2000 to February 2003.

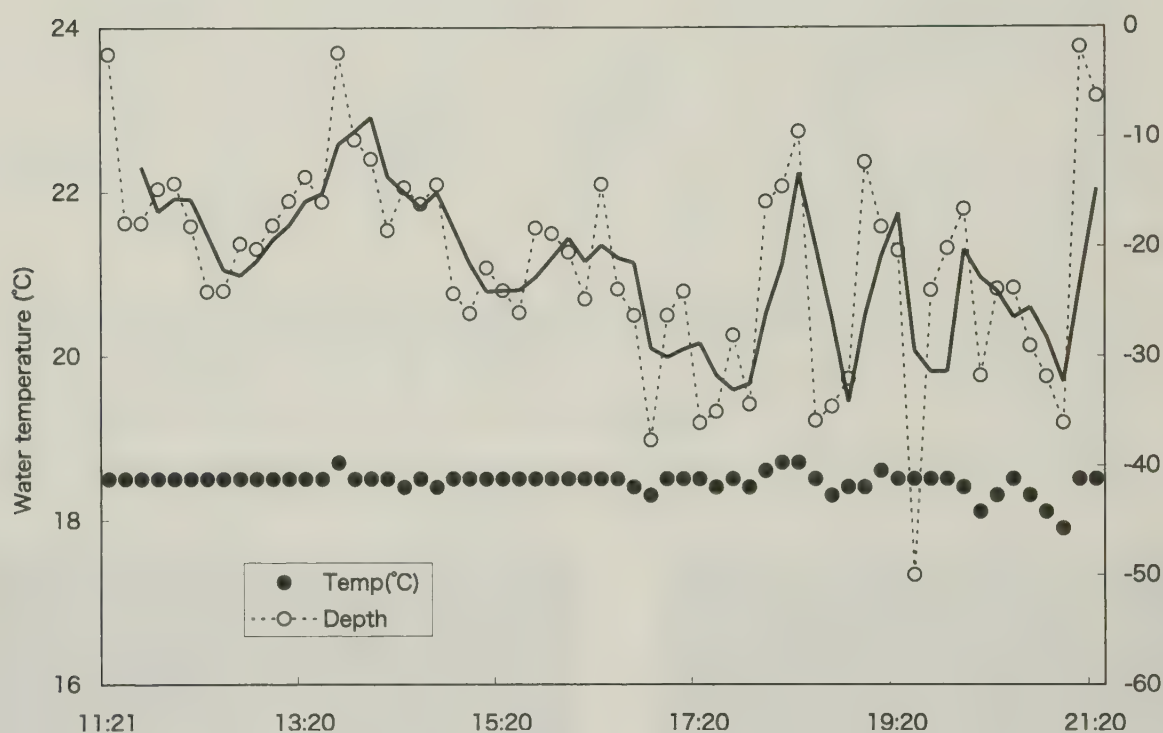


Fig. 5. The depth of vertical movement of the spotted mackerel and water temperatures recorded every 10 min after the release on February 23, 1999 off Ashizuri Cape. The thick depth line shows the moving average of successive three records. Sunset: 18:00

活発に産卵するのは3月中旬から4月中旬であり、産卵期の終息時期は6月から7月頃としている。関東近海のゴマサバの産卵盛期は、本報告で調べた結果の2月中旬から3月中旬とは約1ヵ月間の差がある。これは、水温環境の違いに起因するものと考えられる。

本報告での組織学的観察は事例数が少ないので明確には指摘できないが、村山ら(1995)が示したような

胚胞移動期や最終成熟期に相当する卵は観察されなかった。

ゴマサバの産卵時刻はまだ明らかになっていない。近縁種のマサバでは、白石ら(2004)が指摘したように、第3次卵黄球期にある個体に生殖腺刺激ホルモンを投与すると、約30時間後に吸水・透明化し、その3時間後に排卵することが確認されている。本報告でも

排卵後濾胞は確認されているので、産卵していることは確かである。しかし、産卵時刻を明らかにするためには、調査船等により様々な時間帯に標本を確保する必要があり、今後の課題である。

バイオテレメトリーによる産卵盛期のゴマサバの行動特性については、極めて短時間の追跡調査ではあったが、表層から水深50m層付近にかけて頻繁に鉛直移動を繰り返していた。この時期は鉛直混合期であるために、ゴマサバが経験した環境水温は17～18℃台とほぼ一定であった。しかし、この水温範囲がゴマサバの産卵の適水温かどうかについては、今後他の海域と比較して検討する必要がある。ただ、今回の行動追跡結果からも明らかになったように、複雑な水温構造を持つ水塊を鉛直移動する場合、単に表面水温から産卵盛期の適水温を判断することは困難と考えられる。産卵終息期の6月には50m層に水温躍層が形成され水温は20～22℃であった。これは、ゴマサバの産卵水温の上限を示唆する。

謝 辞

本報告をまとめるにあたり、標本魚の確保にご尽力頂いた土佐清水市漁業協同組合の皆様方に深謝します。また、追跡調査等に様々なご助言とご協力を頂いた第5開洋丸の乗組員の皆様方に、この場を借りて御礼申し上げます。また、草稿について貴重なコメントを頂き、ご校閲頂いた中央水産研究所資源評価部長石田行正博士と生理特性研究室長清水昭男博士に感謝の意を表します。

要 旨

足摺岬周辺海域で漁獲されたゴマサバ成魚を2000年1月以降、2004年11月に至るまで毎月1回サンプリングし、生殖腺熟度指数(KG値)と卵巣の組織切片の組織学的観察から産卵期を推定した。その結果、足摺岬周辺海域では2月下旬からKG値が急速に増大し、2月下旬から3月中旬にピークとなり、この時期が産卵盛期と推定された。そして、6月になると産卵期は終息に向かった。同海域において、バイオテレメトリーを用いて産卵盛期と考えられる2月下旬にゴマサバの遊泳水深と環境水温を調べたところ、表層から50m層までを絶えず鉛直移動しており、産卵すると考えられる水温は、鉛直混合期であることによりゴマサバの遊泳層に関係なく17～18℃台と推定された。産卵終息期の6月には50m層に水温躍層が形成され水温は20～22℃であった。これは、ゴマサバの産卵水温の上限を示

唆する。

文 献

千葉県水産研究センター，静岡県水産試験場，神奈川県水産総合研究所，東京都水産試験場，
2001：関東近海のマサバについて，100pp.
千葉県水産研究センター，静岡県水産試験場，神奈川県水産総合研究所，東京都水産試験場，
2002：関東近海のマサバについて，98pp.
千葉県水産研究センター，静岡県水産試験場，神奈川県水産総合研究所，東京都水産試験場，
2003：関東近海のマサバについて，90pp.
千葉県水産研究センター，静岡県水産試験場，神奈川県水産総合研究所，東京都水産試験場，
2004：関東近海のマサバについて，88pp.
千葉県水産試験場，静岡県水産試験場，神奈川県水産総合研究所，東京都水産試験場，
2000：関東近海のマサバについて，110pp.
神奈川県水産総合研究所，東京都水産試験場，千葉県水産試験場，静岡県水産試験場，
1998：関東近海のマサバについて，98pp.
神奈川県水産総合研究所，東京都水産試験場，千葉県水産試験場，静岡県水産試験場，
1999：関東近海のマサバについて，110pp.
高知県水産試験場，2001：平成11年度漁況海況予報事業報告書．pp. 197.
高知県水産試験場，2002：平成12年度漁況海況予報事業報告書．pp. 193.
高知県水産試験場，2003：平成13年度漁況海況予報事業報告書．pp. 197.
高知県水産試験場，2004：平成14年度漁況海況予報事業報告書．pp. 195.
三谷卓美，上原伸二，石田 実，梨田一也，2002：平成14年ゴマサバ太平洋系群の資源評価．我が国周辺水域の漁業資源評価（魚種別系群別資源評価）．水産庁増殖推進部，独立行政法人水産総合研究センター，pp. 190-202.
牟田邦甫，北方正章，町中 茂，1958：第6章 サバの標識放流．対馬暖流開発調査報告書 第4号（漁業資源篇），水産庁，pp. 80-91.
梨田一也，本多 仁，阪地英男，三谷卓美，平井一行，上原伸二，2006：足摺岬周辺海域及び伊豆諸島海域で実施した標識放流調査によるゴマサバの移動・回遊．水研センター研報，印刷中.
梨田一也，三谷卓美，上原伸二，2000：標識放流及びバイオテレメトリー調査結果からみたゴマサバの

移動回遊と行動特性に関する予備的知見。関東近海のマサバについて。千葉県水産試験場，静岡県水産試験場，神奈川県水産総合研究所，東京都水産試験場，pp. 84-95.

松山倫也，松浦修平，1982：組織学的観察に基づく筑後川両側回遊型アユの成熟・産卵様式。日水誌，**48**，1573-1582.

村山 司，三谷 勇，青木一郎，1995：卵巢成熟度及

び卵巢組織像に基づくマサバ太平洋系群の産卵期の推定。水産海洋研究，**59**，11-17.

白石哲朗，吉野 泰，北野 載，岡本久美子，尾上静正，山口明彦，松山倫也，2004：マサバのホルモン投与による成熟誘導と排卵後過熟現象より推定される天然群における成熟過程。水産海洋学会講演要旨，56p.

キダイの生殖生態

米田道夫^{*1}・依田真里^{*2}

Reproductive Biology of Yellow Sea Bream *Dentex tumifrons*

Michio YONEDA^{*1} and Mari YODA^{*2}

Abstract We described the reproductive characteristics of yellow sea bream, *Dentex tumifrons* in the East China Sea in addition to our recent findings on the spawning season, spawning frequency and batch fecundity of this species. The spawning season of yellow sea bream in the East China Sea is thought to occur twice a year, in spring and autumn, and a female would spawn once during each season, respectively. Our time course sampling showed that yellow sea bream had a regular ovarian maturation cycle and a specific ovulation time of the day. Seasonal change in the ovarian condition of adult specimens suggested that the spawning season of yellow sea bream in the East China Sea occurred throughout almost of the year with higher occurrences of daily spawning fish found in spring and autumn. The estimated batch fecundity of females with mature oocytes was similar to that estimated about 30 years ago. These findings suggest that the annual egg production of yellow sea bream in the East China Sea is much higher than that previously thought.

Key words: yellow sea bream, East China Sea, daily reproductive rhythm, spawning season, annual egg production

キダイ (*Dentex tumifrons*) は本州中部以南から東シナ海、南シナ海およびオーストラリア沿岸に分布する (落合と田中, 1986; 山田, 1986)。本種は西日本海域での重要な漁業資源であり、東シナ海では以西底曳網漁船における主要漁獲対象種として戦前から利用されてきた (真道, 1960)。本種の生殖生態に関する知見は、ほとんどが東シナ海産のものであり、飼育が容易ではないことから、生殖生態に及ぼす環境の影響については不明な点が多い。本稿では、東シナ海産キダイについて、まず分布、産卵期、性成熟・性比における既往知見を紹介し、次に最近明らかにされた卵巢の日周成熟リズム、産卵盛期、バッチ産卵数などの産卵特性を紹介する。

東シナ海の分布

キダイは九州沿岸から台湾までに至る陸棚縁辺付近 (水深100~200m) に広く分布する (Fig. 1)。これらの海域でも、九州西沖、'クチミノセ' 一帯 (北緯29~30°の海域) および台湾北部海域にそれぞれ濃密な群がみられる (真道, 1960; 山田, 1986)。本種の移動は小さく、夏季は浅みに、冬季は深みにという深浅移動を行う程度であり、産卵もそれぞれの分布海域内で行われる。

生殖年周期

既存の報告によれば、東シナ海産キダイの産卵期は

2006年1月6日受理 (Accepted on January 6, 2006)

^{*1} 東北区水産研究所 〒985-0001 宮城県塩竈市新浜町3-27-5 (Tohoku National Fisheries Research Institute, Shinham, Shioyama 985-0001, Japan)

^{*2} 西海区水産研究所 〒851-2213 長崎県長崎市多良良町1551-8 (Seikai National Fisheries Research Institute, Taira, Nagasaki 851-2213, Japan)

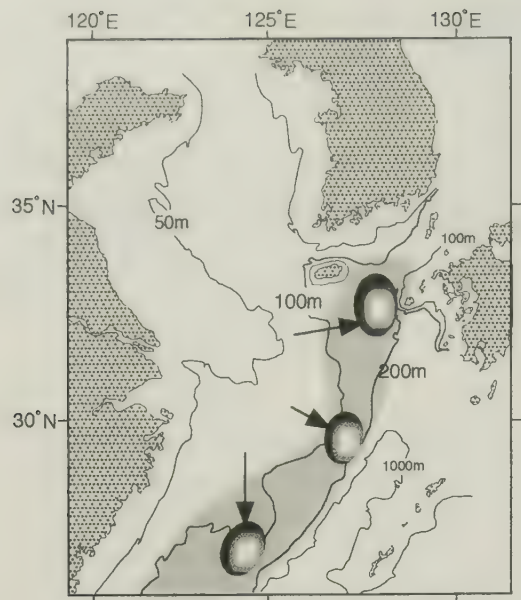


Fig. 1. Geographical distribution of yellow sea bream in the East China Sea. Arrows show the main waters of yellow sea bream distribution.

春と秋の2回である (Shindo and Aoyama, 1954; 真道, 1960; Oki and Tabeta, 1998)。産卵のピークは年齢や海域によっていくらかの差異がみられるが、いずれの場合においても、夏に一時的な産卵の休止期 (8～9月) があると考えられてきた (Shindo and Aoyama, 1954; 真道, 1960; Oki and Tabeta, 1998)。しかし、最近の調査結果では、以下に述べるとおり、

東シナ海産キダイの産卵期が既往の知見とは異なる可能性が示されている。

北緯30°以北で採集されたキダイの生殖腺熟度指数 ($GSI = 100 \cdot \text{卵巣重量} / \text{体重}$) の月別出現状況をFig. 2に示す。卵巣の各成熟段階とGSIの関係から、GSI 2以上の個体は卵黄形成が進行している卵巣を持つと考えられる (Yoda and Yoneda, 2002)。4～11月では、標本の大部分がGSI 2以上であり、8月でも活発に産卵を行っている個体が認められた (「産卵特性」参照)。一方、12～3月では多くの個体がGSI 2未満であったが、春～秋に出現した産卵中の個体と同様の卵巣 (胚胎移動期あるいは成熟期の卵と排卵後濾胞) をもつ雌も確認された。これらの結果は、東シナ海産キダイが個体群として周年にわたり産卵していることを示唆する。

性成熟と性比

東シナ海産キダイ雌魚は尾叉長 (FL) 15cm, 2歳で成熟し、3歳で約80%が成熟すると報告されている (真道, 1960)。しかし、近年では2歳までに個体群の約50%が成熟すると考えられており、約30年前よりも早熟化の傾向が認められる (Oki and Tabeta, 1998)。性比は年齢によって異なり、4歳までは雌の出現率が高いのに対し、5歳以降では雄の割合が増加する (真道, 1960)。性比の逆転がみられる4～5歳魚において、雌雄両性の生殖腺の出現がみられることから、一部の個体は雌から雄へ性転換すると考えられている (青山,

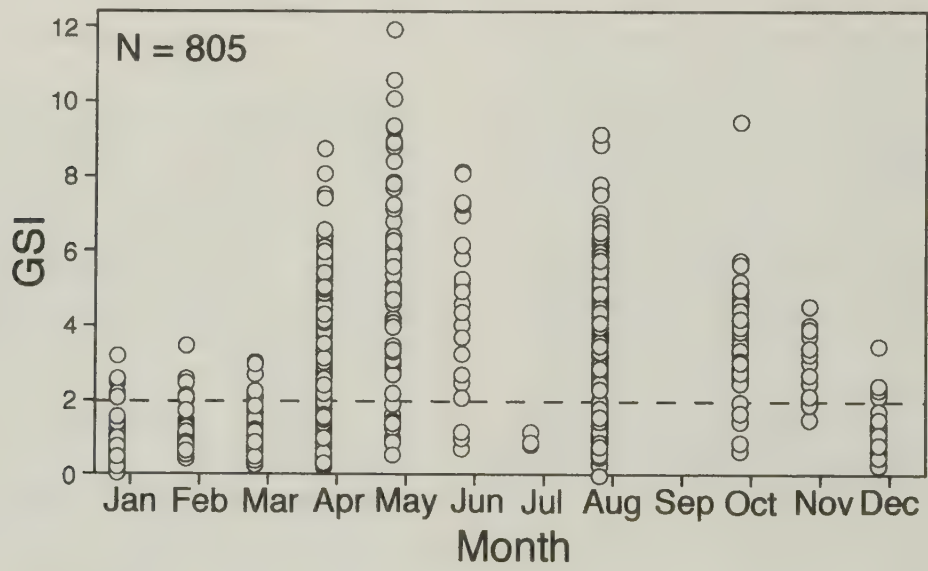


Fig. 2. Gonadosomatic index (GSI) of females yellow sea bream in the East China Sea in different months of the year. Females with $GSI \geq 2$ can be considered as those having vitellogenic ovaries.

1955)。なお、性比が逆転する年齢においても、近年では2～3歳と若齢化している (Oki and Tabeta, 1998)。

産卵特性

東シナ海産キダイは、卵巣内の卵構成 (卵径組成) や卵巣の各成熟段階の月別推移から、これまで春と秋に1回ずつ、1年に計2回の産卵と考えられてきた (Shindo and Aoyama, 1954; 真道, 1960)。しかし、キダイの卵巣卵の発達様式は多くの多回産卵魚のそれと類似しているとともに (Hunter and Goldberg, 1980; Oki and Tabeta, 1998), 近縁種のマダイと比べその産卵回数が極めて低いことから (松山, 1991), 本種の産卵特性を再検証する必要性が高まっていた。

2000年5月, 東シナ海北東海域において昼夜採集を行い, 産卵間近にあるキダイ雌魚の卵巣の成熟状況を調べた (Yoda and Yoneda, 2002)。なお, 卵巣の成熟段階は, 最も発達の進んだ卵群の成熟段階に基づき, 各卵巣卵の組織学的特徴を次のように定義した。第3次卵黄球期 (卵径約485～500 μm): 小型の卵黄球が細胞質内を覆い, 核周辺部には小型の油球が多数認められる。その後, 核周辺部にある油球がそれぞれ融合を開始する; 胚胞移動期 (卵径約600～630 μm): 油球が融合することによりその数が減少する。また卵黄球は融合を開始する; 成熟期 (卵径約670～760 μm): 核は消失し, 卵黄球が活発に融合する。大型の1つの油球が認められる。

また, 排卵後濾胞の退行過程を組織学的観察に基づき次のように規定した (Yoda and Yoneda, unpublished data)。前期: 長円形を呈する顆粒膜細胞層および英膜細胞層の核が明瞭で, 濾胞腔も認められる; 中期: 濃縮した核をもつ濾胞細胞各層が肥厚し, 不規則に密集するとともに, 濾胞腔も小さくなる; 後期: 濾胞細胞層が密集した小さな細胞塊となり, 濾胞腔は認められない。

1. 卵巣の日周成熟リズム

卵巣内における第1卵群の最終成熟過程には明瞭な日周リズムが認められる。早朝では, 成熟期の卵巣と排卵個体が認められるとともに, 新しい排卵後濾胞と胚胞移動期の卵巣卵を同時に持つ個体も出現した (Fig. 3)。午前中では, 胚胞移動期の卵巣のみが認められた。一方, 成熟期の卵巣は午後以降に出現し, 夜間には全ての個体が成熟期の卵巣卵を有していた。また, 第1卵群に胚胞移動～成熟期の卵巣卵をもつ個体において, 第2卵群の出現状況にも同様の規則性がみられた (Yoda and Yoneda, unpublished data)。胚

胞移動期卵は午後以降に出現し, 排卵中の個体 (成熟卵を有する) にも同じ発達段階の卵巣卵が同時に認められた。

卵巣卵と同様に, 排卵後濾胞における各退行段階の時間帯別出現状況にも規則性がみられた (Yoda and Yoneda, unpublished data)。前期の排卵後濾胞は排卵時刻の早朝から出現し, 午前中まで認められた。中期の排卵後濾胞は全ての時間帯で認められたが, 午後～夜でその出現率が高かった。後期の排卵後濾胞は夜間から出現し, 排卵翌日の午前中まで認められた。なお, 早朝～午前中において, 前期と後期の排卵後濾胞を同時に持つ個体が認められた。

上述した卵巣卵と排卵後濾胞の時間帯別出現状況から, キダイの卵巣卵の最終成熟開始から排卵後濾胞消失までの時間経過は次の通りである。第3次卵黄球期の卵は, 排卵日より少なくとも2日前の午後～夜には胚胞移動期に達する。排卵前日の午前中～午後には胚胞移動期から成熟期に移行し, その夜には成熟期に達する。翌日早朝に排卵が起こり, その後引き続いて産卵が行われると考えられる。新しい排卵後濾胞は同日の早朝～午前中出现し, 排卵後濾胞の退行が進んでいく。排卵後濾胞は, 排卵翌日の早朝には後期となり, その午前中に卵巣内から消失すると考えられる。これらのことは, キダイの最終成熟が排卵時刻の約30時間前に起こり, 排卵後濾胞は排卵後約24時間で卵巣内からほぼ消失することを示している。

2. 産卵活性

卵巣の日周成熟リズムに基づき, 連日で産卵していると考えられる各時間帯の卵巣状況は次の通りである

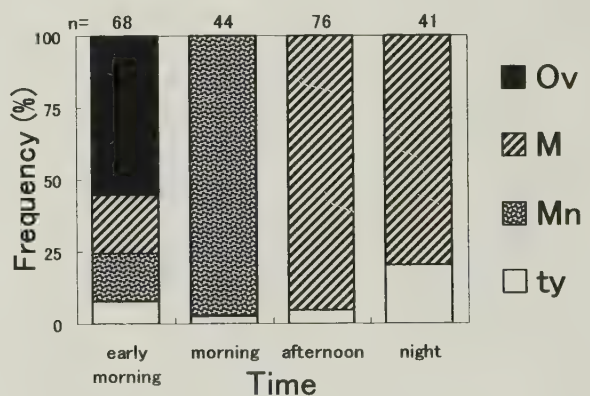


Fig. 3. Frequency of female *D. tumifrons* at different ovarian stages at each sampling time. Ty: tertiary yolk stage, Mn: migratory nucleus stage, M: mature stage, Ov: ovulation, n: number of fish examined.

(Yoda and Yoneda, unpublished data)。午前中では、個体の排卵状況によって3つに区別できる。すなわち排卵直前の個体は、第1卵群に成熟期、第2卵群に胚胞移動期の卵巣卵と退行後期の排卵後濾胞を有する。一方、排卵中あるいは排卵直後の卵巣内には新旧の排卵後濾胞と第1卵群に胚胞移動期の卵巣卵が認められる。午後～夜には第1卵群に成熟期、第2卵群に胚胞移動期のそれぞれの卵巣卵と退行中の排卵後濾胞をもつ。各時間帯において予測される第1, 2卵群および排卵後濾胞の組み合わせを全て持つ個体は、少なくとも3日連続で産卵を繰り返すと考えられる。

各月に採集された成魚産卵群（未成熟、閉鎖、休止期除く）における産卵状況を調べた（Yoda and Yoneda, unpublished data）。3日連続で産卵していると考えられる卵巣を持つ個体の出現率は5月（計182個体）82%であった。なお、同様の方法で他の月に採集された成魚産卵個体についても調べたところ、4月（計70個体）64%、8月（計38個体）50%、10月（計32個体）75%であった。一方、雌成魚（未成熟期除く；FL ≥ 15cm）の中で産卵を終了した閉鎖期、生殖腺の成熟をまだ開始していない休止期、それらの卵巣をもつ個体の出現率は4月（計144個体）21%、5月（計252個体）8%、8月（計47個体）5%、10月（計34個体）6%であった。

以上の結果から、東シナ海産キダイは、個体群として春～秋の長期にわたりほぼ毎日産卵を繰り返しており、特に春と秋がそのピークであると考えられる。1尾の雌が連日産卵をどのくらい繰り返すのかについては不明であるが、年2回という推定産卵回数（Shindo and Aoyama, 1954; 真道, 1960）に関してはほぼ否定され、夏季における産卵の一時的な休止の調査結果（Oki and Tabeta, 1998）も再考の余地があると考えられる。

3. バッチ産卵数

卵巣卵の卵径組成から、キダイでは最も発達した卵が成熟期（前期）に達した時、分離卵群が形成される（Yoda and Yoneda, 2002）。そこで、成熟期（排卵個体除く）の卵巣をもつ個体を用いて、重量法により、バッチ産卵数を推定した。

5月に採集された成熟個体の平均バッチ産卵数（ $\pm$ S.D.）は 7340 ± 4794 粒（計91個体）であった。なお、4月と10月に採集された成熟個体についても同様にバッチ産卵数を推定したが、3期間におけるバッチ産卵数には有意差が認められなかった（ANOVA, $P > 0.05$; Yoda and Yoneda, unpublished data）。5月に採集された標本において、バッチ産卵数（BF）と体重

（BW）の間には有意な相関が認められ、次式を得た： $BF = 42.0 \text{ BW(g)} - 1411.7$ ($r = 0.73$, $N = 91$)。

これらのバッチ産卵数は、約30年前に同様の手法で推定されたものとほぼ一致する（Shindo and Aoyama, 1954）。しかし、東シナ海産キダイは個体群として長期にわたりほぼ毎日産卵していると考えられることから、キダイの年間総産卵数における過去の推定値は過小評価であったと推察される。

今後の課題

一般に、魚類における生殖腺の成熟の開始や停止は、水温や日照時間などの環境変動によって引き起こされることが知られている（Lam, 1983）。例えば、春と秋に産卵するトビヌメリでは、長日と高水温の影響で夏季に一時的な産卵の停止がみられる（Zhu *et al.*, 1989）。東シナ海産キダイの産卵期も春と秋であり、夏における産卵の一時休止がこれまで報告されてきた（真道, 1960; Oki and Tabeta, 1998）。しかし、近年の調査結果により、8月のみならず、冬でも毎日産卵している個体が確認された。このことは、日長の変化がキダイの生殖腺の成熟開始や停止に重要な役割を果たしていない可能性を示唆する。キダイと同様に、東シナ海陸棚縁域に生息するアカアマダイ（山田, 1986）、アンコウ（Yoneda *et al.*, 1998）、カイワリ（Yoneda *et al.*, 2002）などの底魚類の産卵期も、他の海域に比べ、長期におよぶことが報告されている。東シナ海東方海域は周年にわたり黒潮系暖流の影響を強く受ける高水温・高塩分の海域であり、大陸沿岸水の影響を受ける西方海域と比べ、季節・年変動の少ない海洋環境となっている（近藤, 1985）。この変動の少ない海洋環境が東方海域産底魚類における産卵期の長期化に影響しているかもしれない。一方、北緯30°付近における黒潮の東シナ海からの流出により、東シナ海東方海域では南北で水温の勾配がみられる（近藤, 1985）。このことは、東シナ海陸棚縁域に生息する底魚類が南北海域において異なる水温レジームを経験していることを示唆している。海洋環境に加え、生息域の餌環境は個体の生殖腺の成熟開始と進行、産卵の継続に大きな影響を与えることが知られている（Wootton, 1990）。大西洋マダラでは、年齢によって産卵開始時期や産卵期間が異なることが知られており（Hutchings and Myers, 1993）、東シナ海産カイワリでも成魚の体サイズによって産卵期が異なる（Yoneda *et al.*, 2002）。このため、東シナ海産キダイの産卵期の長期化および年間総産卵数を明らかにするためには、海洋・餌環境、年齢、体サイズ（コンディション）などの様々な要因を検討していく必要があると考えられる。

文 献

- 青山恒雄, 1955: レンコダイ *Taius tumifrons* にみられた両性生殖巣. 魚類学雑誌, **4**, 119-127.
- Hutchings J. A. and Myers R. A., 1993: Effect of age on the seasonality of maturation and spawning of Atlantic cod, *Gadus morhua*, in the North-west Atlantic. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **50**, 2468-2474.
- Hunter J. R. and Goldberg R., 1980: Spawning incidence and batch fecundity in northern anchovy, *Engraulis mordax*. *Fish. Bull.*, **77**, 641-652.
- 近藤正人, 1985: 東シナ海・黄海漁場の海況に関する研究—I. 50m深及び底層における平均水温・塩分の分布. 西水研報, **62**, 19-66.
- Lam T. J., 1983: Environmental influences on gonadal activity in fish, in "Fish Physiology, vol. 9B" (ed. by Hoar, W. S. *et al.*), Academic Press, New York, pp. 65-116.
- 松山倫也, 1991: 6. マダイ「海産魚の産卵・成熟リズム」(廣瀬慶二編), 恒星社厚生閣, 東京, pp. 78-91.
- 落合 明, 田中 克, 1986: 魚類学(下), 恒星社厚生閣, 東京, pp. 757-771.
- Oki D. and Tabeta O., 1998: Age, growth and reproductive characteristics of the yellow sea bream *Dentex tumifrons* in the East China Sea. *Fish. Sci.*, **64**, 191-197.
- 真道重明, 1960: 東海におけるレンコダイ資源の研究. 西水研報, **20**, 1-198.
- Shindo S. and Aoyama T., 1954: Maturity of the yellow sea bream (*Taius tumifrons*) in the East China Sea. *Bull. Seikai. Reg. Fish. Res. Lab.*, **20**, 1-32.
- Wootton R. J. 1990: Ecology of teleost fishes, 1st ed., Chapman & Hall Ltd, London, 404 pp.
- 山田梅芳, 1986: アカアマダイ, キダイ「東シナ海・黄海のさかな」(岡村収編), 西海区水産研究所, 長崎, pp.160-161, 232-233.
- Yoda M. and Yoneda M., 2002: Assessment of spawning frequency and batch fecundity in the yellow sea bream, *Dentex tumifrons*. *Fish. Sci.*, **68**(Suppl. 1), 443-444.
- Yoneda M., Futagawa K., Tokimura, M., Horikawa H., Matsuura S., and Matsuyama M., 2002: Reproductive cycle, spawning frequency and batch fecundity of the whitefin jack *Kaiwarinus equula* in the East China Sea. *Fish. Res.*, **57**, 297-309.
- Yoneda M., Tokimura M., Fujita H., Takeshita N., Takeshita K., Matsuyama M., and Matsuura S., 1998: Reproductive cycle and sexual maturity of the anglerfish *Lophiomus setigerus* in the East China Sea with a note on specialized spermatogenesis. *J. Fish Biol.*, **53**, 164-178.
- Zhu Y., Furukawa K., Aida, K., and Hanyu I. 1989: Annual reproductive rhythm of the tobinumeri-dragonet *Repomucenus beniteguri* in lake Hamana. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **55**, 591-599.

トラフグの産卵生態

柴田玲奈^{*1}・青野英明^{*1}・町田雅春^{*2}

Spawning Ecology of Tiger Puffer, *Takifugu rubripes*

Rena SHIBATA^{*1}, Hideaki AONO^{*1}, and Masaharu MACHIDA^{*2}

Abstract Tiger puffer (*Takifugu rubripes*) is a commercially important fish species in Japan, and many ecological studies and rearing experiments have been conducted on this species. Information on the spawning ecology in the wild, and especially the effects of environmental factors have been reported in the literature but this information has not been summarized. So, we reviewed spawning ground, spawning season, environment, distribution and post-hatching migration with growth from the spawning ground to the East China Sea, Yellow Sea and coast of Kyusyu, with special reference to the effects of water temperature.

Key words: tiger puffer, spawning ecology, distribution, migration

トラフグ *Takifugu rubripes* は、我が国で漁獲されるフグ類の中では最も高価な魚種である。トラフグ養殖の歴史は古く、1935年頃から畜養技術の開発、1954年には長崎水試による人工孵化と稚魚までの飼育養成が行われた（藤田, 1962）。1965年頃から種苗放流が始まり、放流場所の拡大とともに1985年から放流技術開発調査事業により人工種苗の大量生産に向けて、天然における生態調査や多くの飼育実験が盛んに行われるようになった。産卵に関しては効果的な種苗生産を行うため採卵促進のホルモン投与等に関する知見が多く蓄積されている。しかし、天然海域における産卵生態、とりわけ環境要因が及ぼす影響に関する知見は散見されるのみで、まとまった総説も見られない。本報告では、産卵回遊や生殖機構について今までの知見を整理し、それらに関連する水温の知見も併せて概説した。

産卵場

トラフグは、我が国では北海道南部から鹿児島までの太平洋沿岸、日本海沿岸大陸側ではウラジオストク、朝鮮半島、中国大陸、台湾までの日本海、渤海、黄海、東シナ海に分布している。我が国における主な産卵場としては、不知火海湾口、有明海湾口、福岡湾口、関門海峡一帯、尾道周辺海域、備讃瀬戸、伊勢湾口安乗沖、若狭湾、能登島および秋田・天王町沿岸などが知られている（藤田, 1996）（Fig. 1）。産卵期は南が早く北が遅い傾向にあり（藤田, 1988）、九州西岸は3月下旬～5月中旬（藤田, 1962）、瀬戸内海では4月下旬～5月（藤田, 1962；Kusakabe *et al.*, 1962）、伊勢湾口部で4月上旬～下旬、若狭湾で4月～5月（藤田, 1988）である。九州から伊勢湾口にかけての産卵水温は14～18℃、産卵床は水深10～50mの海底で、流速は速く、底質は貝殻混じりの細砂～粗礫に形成される（鈴木, 2001）。

産卵行動についての報告はないが、飼育水槽（3m深）の約1m程度の水深において複数の雄が数日間に

2006年1月6日受理 (Accepted on January 6, 2006)

^{*1} 中央水産研究所 〒238-0316 神奈川県横須賀市長井6-31-1 (National Research Institute of Fisheries Science, 6-31-1 Nagai, Yokosuka, Kanagawa 238-0316, Japan)

^{*2} 南伊豆栽培漁業センター 〒415-0156 静岡県加茂郡南伊豆町石廊崎183-2 (Minamiizu Station, National Center for Stock Enhancement, 183-2 Irouzaki, Minamiizu, Kamo, Shizuoka 415-0156, Japan)



Fig. 1. トラフグの産卵場の分布と場所 (藤田, 1996).

わたり雌を追尾し、その後自然産卵が行われ、正常にふ化したことが確認されている (町田, 未発表)。Tokai *et al.*, (1993) の報告では、瀬戸内海のトラフグを対象とした漁業者が産卵場で複数の雄が雌を追尾する行動を目撃しており、水槽内で観察された行動と一致していることから、トラフグは雌1尾に対し複数の雄が関与するといった産卵行動を示す可能性が高いと思われる。産卵は1回あるいは極めて短期間に完了し (Kusakabe *et al.*, 1962), 放卵後雌は産卵場を去るが、雄は産卵場に留まり、複数の産卵に関与する。以上のような産卵習性及び漁具特性から、産卵親魚を対象とした漁業では、漁獲物の性比が雄に偏る傾向がある (藤田, 1962; 神谷ら, 1992)。

ふ化・仔稚魚

卵は球形の沈性粘着卵であり、飼育実験では、ふ化までに7~12日を要し、平均水温 (θ : $^{\circ}\text{C}$) とふ化までの所要時間 (T :日) の関係は $T=42.655-2.0596\theta$ で表される (立石, 1984) (Fig. 2)。生殖腺原基はふ化後7日後には形成され、卵巣の分化は、ふ化後45~50日、精巣の分化はふ化後55日以降に判別できる (松浦, 1997)。

仔・稚魚期 (5~6月) は、産卵場近くの淡水の影響の強い汽水域に集まり、稚魚期 (7~8月) には次第に沖へ行き、それ以降さらに遠方へ移動する (佐藤ら, 1995)。

移動・産卵回遊

九州や瀬戸内海では、トラフグ幼魚は7月に全長40~50mm, 8月に70~100mmに成長し、干潟の沖で小型定置網や小型底びき網に入網し始めるが、10月末に水温の降下が始まると、16 $^{\circ}\text{C}$ 前後を境にして内海の沖合や湾口に移動を始める。当歳魚は、湾内に留まるも

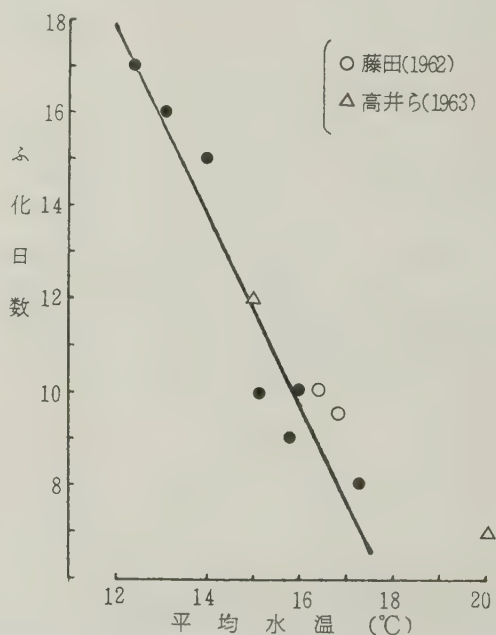


Fig. 2. トラフグ卵の水温とふ化日数との関係 (立石, 1984).

のと外海との連絡水域に移動するものがある。13~14℃以下ではほとんど摂餌しなくなり成長も止まって海底の砂泥中に埋没して越冬する(藤田, 1996)。

トラフグの分布・回遊は産卵場と関連して発育段階毎に生息海域がある程度限定される。瀬戸内海のトラフグは当歳魚から漁獲対象となり、成長するに従い関門海峡及び豊後水道から外海へ移動し(Fig. 3), それ以降は外海域(黄海, 東シナ海など)で生息する(佐藤ら, 1995)。花淵(1982)は漁場の漁獲努力量の推移から、トラフグの分布は9月に黄海域, 11月には黄海の全域に広がると同時に済州島にも南下し, 1月には済州島から九州沿岸域へ広がって3, 5月には九州沿岸により接近すると報告している。この移動・回遊は水温の低下とともに行われ, これらの群には未成魚と成魚が含まれ, 成魚については日本沿岸への産卵回遊群と, 産卵時期がやや遅い韓国沿岸の産卵場への回遊群から構成されている(佐藤ら, 1995)。雄は2歳, 雌は3歳で成熟する(山口県・福岡県, 1986)。田川ら(1996)や内田ら(1991)の標識放流試験結果では, 東シナ海, 黄海, 玄界灘, 豊後水道域などにおいては幼魚期, 未成魚期及び成熟期に産卵場の異なる群が混じ

り合うことが報告されており, 尾道周辺海域を産卵場とする群では, 産卵期に放流した成魚が翌年再び同じ産卵場に回帰することが標識放流試験結果により証明されている(佐藤ら, 1999)。トラフグの回遊と水温の関係に関する一例として, 浅海定線の観測データを用いて解析した結果, 尾道周辺を産卵場とする群では, 3月における回遊経路上の九州沿岸の底層水温と尾道周辺の産卵親魚の盛漁期の間に一定の関係が認められ, 3月の回遊経路上の水温により4~5月にかけての産卵場周辺の親魚対象漁業の盛漁期がある程度予測可能であった^{*1}(Fig. 4)。以上のことは回遊途上海域での水温を指標として, 主要な産卵群の来遊時期を予測可能とするものと思われる。

成熟

東シナ海・黄海の延縄漁で漁獲されたトラフグの生殖巣の観察より, 雄は黄海からの南下時にすでに成熟を開始しているものも出現しているが, 雌では南下後沿岸に向かう途中で成熟を開始することが知られている(松浦, 1993)。また, 鈴木ら(1996)は瀬戸内海の

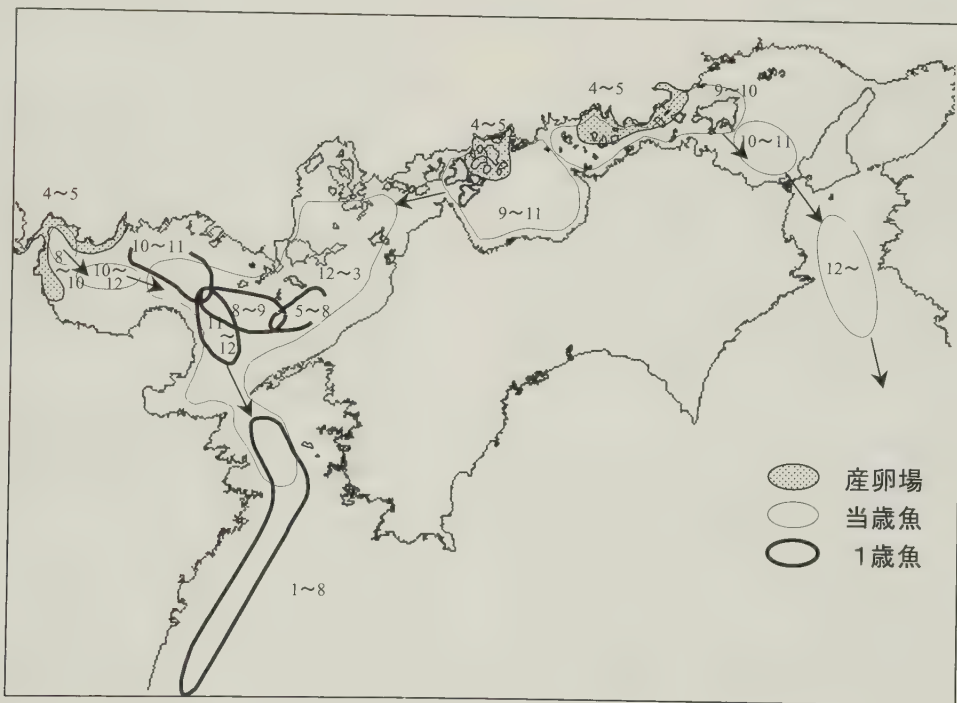


Fig. 3. 瀬戸内海におけるトラフグの年齢別の漁期, 図中の数字は月(平成元年度広域資源培養管理推進事業報告書, 1991; 檜山, 1981; 伊東・山口, 1987)。

^{*1} 柴田玲奈・佐藤良三・鈴木伸洋, 1997: 瀬戸内海中西部におけるトラフグの盛漁旬と水温の関係, 平成9年度日本水産学会秋季大会講演要旨集, p.183.

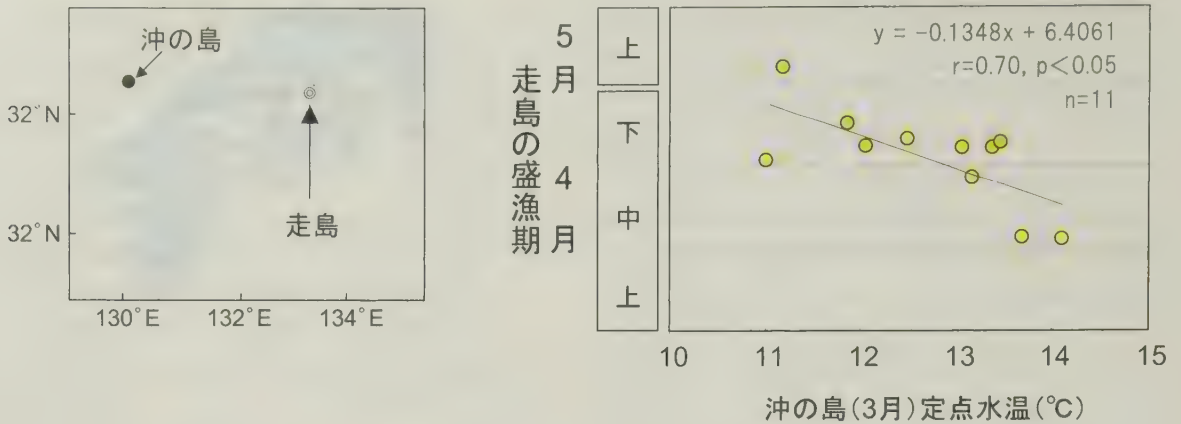


Fig. 4. 3月における回遊途上海域（沖の島）の水温と産卵場周辺（走島）での盛漁期の関係。

産卵場近傍で漁獲されるトラフグの成熟について、雄の精巣はほぼ成熟状態にあるが、卵巣は最終成熟に至っていないことを報告しており、雄の方が一般の魚類で見られるよりかなり早くから繁殖の準備に取りかかり、産卵場には遅くまで滞留し、繁殖に寄与しているのが特徴である（松浦，1993）。

その他

トラフグには幼時雌雄同体現象は認められていない（松浦，1994）が、未成魚や成魚については雌雄同体個体の出現が報告されている（鈴木，1997）。

また、特異的現象としてトラフグ属の魚類については天然交雑が認められている。トラフグ属6種の核型は互いによく類似し、遺伝的にも非常に近縁な関係にあり、このことがこの属における天然交雑フグの出現原因の一つであるとされている（Miyaki *et al.*, 1995）。

トラフグは近年の漁獲量減少に伴い、九州・山口北西海域や伊勢湾・三河湾での資源回復計画によるTAE（漁獲努力量の総量管理対象）種に選定されている。トラフグ資源にとって、水温は再生産、加入、成長に与える影響が大きいと考えられることから、資源の回復を考慮する上でも、その産卵生態に与える水温の影響について早急に把握する必要があると思われる。

文 献

- 藤田矢郎，1962：日本産主要フグ類の生活史と養殖に関する研究。長崎水試論文集第2集，pp. 1-121。
 藤田矢郎，1988：日本近海のフグ類。水産研究叢書，39，

- 日本水産資源保護協会，東京，pp.1-128。
 藤田矢郎，1996：トラフグの生物学。さいばい，79，15-18。
 花淵信夫，1982：黄海・東シナ海におけるフグ類について。漁業資源研究会議・西日本底魚部会報，10，37-45。
 広島県・山口県・福岡県・大分県・宮崎県・高知県・愛媛県，1991：平成元年度広域資源培養管理推進事業報告書 瀬戸内海西ブロック，2-79。
 檜山節久，1981：山口県内海域におけるトラフグ資源の管理について。山口県内海水試報告，8，40-50。
 伊東 弘，山口義明，1987：瀬戸内海中西部海域におけるトラフグの分布と移動。漁業資源研究会・西日本底魚部会報，15，19-28。
 神谷直明，辻ヶ堂 諦・岡田一宏，1992：伊勢湾口部安乗沖におけるトラフグの産卵場。栽培技研，20，109-115。
 Kusakabe D., Murakami Y., and Onbe T., 1962 :Fecundity and spawning of a puffer, *Fugu rubripes* (T. et S.) in the central waters of the Inland Sea of Japan. *J. Fac. Fish Husb. Hiroshima Univ.*, 4, 47-79, 8pls.
 松浦修平，1994：トラフグ生殖腺の性分化過程。水産増殖，42，619-625。
 松浦修平，1993：トラフグの性成熟と回遊。魚類学雑誌，40，128-129。
 松浦修平，1997：生物学的特性。「トラフグの漁業と資源管理」（多部田 修編），恒星社厚生閣，東京，pp. 16-27。
 Miyaki K., Tabeta O., and Kayano H., 1995: Karyotypes in six species of pufferfishes genus *Takifugu* (Tetraodontidae, Tetraodontiformes).

- Fish. Sci.*, **61**, 594-598.
- 佐藤良三, 鈴木伸洋, 柴田玲奈, 山本正直, 1999: トラフグ *Takifugu rubripes* 親魚の瀬戸内海・布刈瀬戸の産卵場への回帰性. 日水誌, **65**, 689-694.
- 鈴木伸洋, 岡田一宏, 神谷直明, 1996: トラフグ生殖腺の性分化過程と性比. 南西水研報, **29**, 39-48.
- 鈴木伸洋, 1997: 天然トラフグにみられる間性生殖腺の組織学的検討. 南西水研報, **30**, 101-113.
- 鈴木伸洋, 2001: 中回遊型魚類の産卵場形成要因の解明. 中回遊型魚類の回帰特性の解明と資源管理技術の開発, 研究成果**369**, 農林水産技術会議事務局, pp.44-55.
- 田川 勝, 伊東正木, 1996: 東シナ海・黄海で実施した標識放流結果からみたトラフグの回遊生態. 西水研報, **74**, 73-83.
- 高井 徹, 松井 魁, 1963: トラフグの種苗生産に関する予察的研究. 水産増殖, 臨時号**2**, 1-7.
- 立石 健, 1984: トラフグ種苗生産の現状と要点ならびに問題点. 水産における技術開発の現状と展望, 技術情報センター, 大阪, pp.80-91.
- Tokai T., Sato R., Ito H., and Kitahara T., 1993: Year-class strength of the ocellate puffer around a spawning area in the Inland sea of Japan. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **59**, 245-252.
- 内田秀和, 伊東正博, 日高 健, 1990: トラフグの資源生態に関する研究Ⅱー標識放流結果からみた筑前海産トラフグの分布と移動ー. 福岡水試研報, **16**, 7-14.
- 山口県, 福岡県, 1986: 昭和60年度放流技術開発事業報告書トラフグ, pp.1-99.

マダラの生活史と繁殖生態—繁殖特性の年変化を中心に—

成松 庸二*

Reproductive Biology of Pacific Cod, a Review Especially Referring to Interannual Variations of Biomass, Age and Size at Maturity and Fecundity

Yoji NARIMATSU*

Abstract The life history and reproductive biology of Pacific cod (*Gadus macrocephalus*) for several populations were reviewed. Tagging studies have revealed that each population is distributed and migrates only in a small area, probably resulting in the occurrence of many local populations. Fishes in high latitude have advantage in lifetime, disadvantage in growth rate, and thus few advantage in maximum body size over fishes in low latitude. Females spawn millions of adhesive demersal eggs once in a winter season. Followed by the review, annual variations of age and body size at maturity, fecundity were examined and discussed in relation to recruitment biomass, growth, and bottom water temperature for the Tohoku (the Northwest Pacific off Japan) stock.

Key words: Pacific cod, age and body size at maturity, biomass, fecundity, annual changes

マダラ *Gadus macrocephalus* はカリフォルニア州サンタモニカ湾から茨城県沖を南限としてカナダ西岸、ベーリング海およびオホーツク海まで弧を描くように広く北太平洋沿岸に分布している (Bakkala *et al.* 1984)。食味がよく、成長が早く大型になることもあり、本種はほとんどの分布域で重要な漁業資源になっている。一般にマダラ資源は、近縁種で大西洋北部の重要資源である大西洋マダラ *G. morhua* (Trippel, 1995) に比べて変動が小さい傾向にあるが (Bakkala *et al.*, 1984), 分布の南限に当たる東北地方の太平洋岸では比較的大きい (成松ら, 2005)。また、この変動要因として浮遊期における海水温の影響が示唆されているものの (清水ら, 2002), 水温がどのように作用しているかは明らかにされておらず、さらに他に影響をおよぼす要因に関する検証もほとんど行われていない。ここでは、マダラの生活史に関するこれまでの知見を、東北海域を中心としてまとめた後、繁殖特性の年変化

に関する結果を示し、親魚の状態や生息環境の変化が資源変動におよぼす可能性を検討することで資源変動要因を明らかにするための指針としたい。

生活史と繁殖特性

1) 分布・移動

マダラの分布水深帯は数10mから550mにおよぶ (Hart, 1973)。若齢期には水深数10m帯に分布し、成長に伴い深場に移動すると考えられている (Bakkala, 1984; Bakkala *et al.*, 1984)。アリューシャン列島周辺では水深0～500m帯に分布し、100～200mで最も高密度であることが確認されている (Brown and Wilderbuer, 1984)。ヘケット海峡からヴァンクーバー沖にいたるカナダ西岸では85～110mに主分布水深があり、ほとんど季節変化は認められていない (Westrheim and Tagart, 1984)。東部ベーリング海

では、調査した200~500mでは最も浅い200~250mで密度が高いこと、冬季~春季の方が夏季に比べて分布水深帯が浅いことが報告されている (Bakkala, 1984)。東北太平洋岸におけるマダラの生息水深は100~550mである (北川ら, 2002; 成松ら, 2004)。5月下旬から6月上旬に水深40~100m帯に着底し (成松ら, 2005)、水温が上昇する夏季に深場に移動していき、10月には水深250m前後の大陸棚斜面上部に達すると考えられる (北川ら, 2002; 成松ら, 2004)。その後、季節によって深浅移動し、水温の低い冬~春季には浅い海域に、水温の高い夏~秋季には深い海域に分布することが知られている (北川ら, 2002; 服部ら, 2004)。また、産卵期になると水深100m以浅の海域に來遊することが明らかにになっている (福田ら, 1985)。

マダラの水平的な移動、回遊範囲は非常に狭いと考えられている。アメリカとカナダでは1944~1970年において合計34,000尾以上のマダラに標識放流を行い、移動、回遊範囲および海域を調べている。その結果、ほとんどの個体が放流地点と同水域内で再捕されていた (Westrheim, 1984)。このことはマダラが索餌や繁殖の際にも大きな水平移動をしないことを意味している。また、極東沿岸だけでも10以上の地域個体群が存在し、それらの交流はほとんどないことが報告されている (Moiseev, 1953)。

国内では、脊椎骨数の解析 (菅野ら, 2001) や標識放流 (福田ら, 1985; 夏目と藤沢, 1995) によって移動、回遊や個体群の構造を調べる試みが行われている。津軽海峡を含む北海道南部と道東海域が同一の個体群であるかどうかについては研究者間で意見が分かっているものの (福田ら, 1985; 菅野ら, 2001)、本州日本海岸や東北太平洋岸の集団は陸奥湾で産卵する集団や北海道太平洋岸の集団と異なり、一つの個体群として形成されていると考えられている。

2) 年齢査定・成長

マダラの年齢査定の歴史は長く、カナダ西岸では1960年代以前からさまざまな硬組織を用いた年齢査定法が検討されてきた (Kennedy, 1970; Ketchen, 1970)。試行錯誤の結果、Ketchen (1970) は鱗を元にした年齢査定法が最も精度が高いとしてマダラの年齢査定の基準としたが、高齢魚については精度が落ちることが後に明らかになった (Westrheim and Shaw, 1982)。それと前後するように Beamish (1981) は背鰭鱗条を薄くスライスして年齢を査定する方法を報告し、さらに Lai *et al.* (1987) の追試によりその手法が有効であることが示されている。しかし Kimura and Lyons (1990) は鰭条の最適な切断部位を同定するのが難しい

こと、生活史初期にできる輪紋が不明瞭な個体が多いことを示し、特に高齢魚については耳石による査定がよいことを示唆している。その後、服部ら (1992) は北海道太平洋岸の個体を用い、耳石の薄片を作ることにより若齢期に形成された輪紋も観察が可能であること、耳石透明帯が冬季に1本形成されることを発見し、満1歳から形成される輪紋が年齢形質として有効であることを示した。

成長は海域によって異なり、太平洋では北ほど遅く、南ほど早くなる。被鱗体長は満1歳で17~23cm、満3歳で33~58cm、満5歳で50~75cm程度である (服部ら, 1992)。一方、寿命は高緯度域ほど長く、太平洋の南部では6~8歳程度 (Foucher and Westrheim, 1984; Cohen *et al.*, 1990; 服部ら, 1992) であるのに対し、アラスカ湾やベーリング海では11歳以上である (Foucher *et al.*, 1984; 服部ら, 1992; Klovach *et al.*, 1995)。高緯度域ほど成長は遅いものの寿命が長いため、最大体長は海域間であまり変わらず、80~90cm程度である。なお、東北海域では満1歳で体長19cm、体重90g程度であるが、満3歳で48cm、1.7kgになり、満7歳では80cm、9.0kgに達する。また、数千個体の年齢査定から寿命は8歳程度と考えられている (成松等, 2005)。

3) 成熟・産卵

生殖周期は東北海域に近接する北海道太平洋岸の集団のものが報告されている (Hattori *et al.*, 1992)。その報告によると、卵巣内では卵母細胞の発達がほぼ一様で、4月から8月に無卵黄期から表層胞期に緩やかな移行が観察されている。9~10月に卵黄形成が始まり、11月には卵黄蓄積がほぼ終了し、GSIも10以上になっていた。12月になると産卵を終えた個体も見られ始め、1月中にはほぼすべての個体が産卵を完了させていた。産卵直前でも卵母細胞の発達段階はほぼ一様であること、産卵した個体の卵巣からはその繁殖期に産むと考えられる卵母細胞が見られないことから、マダラの産卵は一繁殖期に1回であると推察されている。また、雄では4月から8月でも一部の個体で成熟が始まっており、12月になるとほとんどの個体が放精期になっていた。

産卵は雌雄ペアもしくは一妻多夫で行われ、雌が砂泥底の上で旋回し、産卵を開始すると雄がやってきて放精する。雄は尾鰭で精子を拡散させた後に間もなくその場を離れ、やがて雌も産み終えるとその場を離れる。卵は分散してゆっくりと沈み、砂に軽く粘着後、発生してやがてふ化を迎える (Sakurai and Hattori, 1996)。

成熟年齢と体長、産卵数

1) 海域間差

これまでにいくつかの海域でマダラの成熟年齢と体長の関係が示されている（服部ら, 1992, Teshima, 1985; Thompson, 1962）。これらの報告によると、太平洋の中で高緯度域に生息する個体ほど最初に成熟する年齢は高く、体長は大きくなる傾向にある。たとえば東北海域やワシントン州の沖合では雌は満3歳、体長40cm台で成熟する（Cohen *et al.*, 1990; 服部, 1994）のに対し、東部ベーリング海では体長57cmで成熟し、西カムチャツカでは満5歳、体長67cmで成熟する（Moiseev, 1953）。なお、成長や寿命にはほとんど雌雄差はなく、50%成熟体長は2～5 cm程度雄の方が小さいことが報告されている（服部, 1994）。

2) 東北海域における年変化

各海域で1年あるいは2, 3年のデータに基づく成長や成熟に関する報告はあるものの、それぞれの海域の中で成長や成熟年齢、体長の変異を比較した研究例はない。成熟年齢や体長の変異は個体群の産卵数に影響をもたらす要因の一つで、効果的な資源管理を行うためには不可欠の情報である。上述のように成熟年齢や体長に海域差があることが明らかになっているので、一つの個体群でも成長や成熟年齢、体長に年変化がある可能性が高い。そこで複数年にわたり東北海域のマ

ダラの成熟年齢と体長、抱卵数を調べた。

1995～2004年（一部のデータは1996～2003年）11～2月に商業的に底曳網で採集され、八戸港に水揚げされた個体および2000年～2003年10月に東北海域で東北区水産研究所八戸支所による着底トロール調査で漁獲された体長約35cm以上の個体について体長、体重および生殖腺重量を測定後に耳石（扁平石）を摘出した。Hattori *et al.* (1992) に示されているように、11～12月の卵巣は成熟が進んでいるものの、10月の卵巣は卵黄を蓄積し始めてから時間が短いため、一部の個体についてはGSIの値から成熟、未熟の判断をすることができなかった。そのため、調査で漁獲された個体については生殖腺を10%緩衝ホルマリンで保存した後、組織切片をヘマトキシリン-エオシン染色をして光学顕微鏡下で観察し、成熟、未熟を判別した。2000～2003年のサンプルは商業的に漁獲されたものと調査で漁獲されたものを合わせて成熟、未熟の判別に用いた。また、マダラの産卵期は12～3月であることが明らかになっているため（Hattori *et al.*, 1992）、年齢の起算日を1月とし、耳石薄片法（桜井と福田, 1984; 服部ら, 1992）により各個体の年齢査定を行った。

その結果、体長範囲を2 cm単位でまとめ、体長と成熟割合の関係を調べると、両者の関係はロジスティック式で示すことができた（Fig. 1）。50%成熟体長は45.6～51.5cm（平均±SD=48.3cm±2.0）であった。この体長帯は満3歳魚の体長帯とほぼ一致する（服部ら,

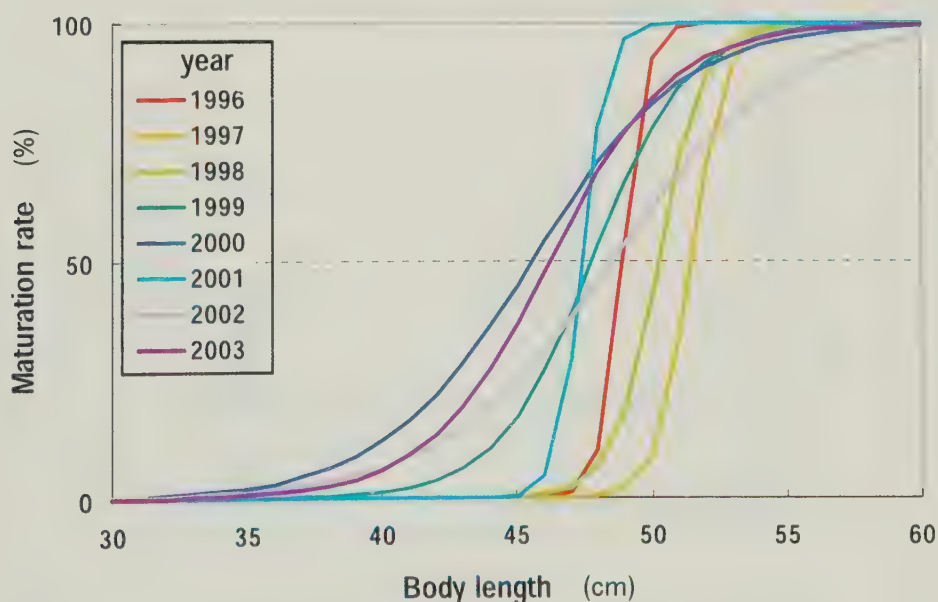


Fig. 1. The relationship between body length and maturation rate fitted to logistic curve of female Pacific cod caught in 1996-2003.

1992, 成松等, 2005)。そこで, 次に各年の2歳10か月～3歳2か月の個体の体長組成に上で求めたロジスティック式を当てはめ, 成熟割合を算出した。

各年の満3歳魚の平均体長は43.6～50.3cm (全体では平均 $\pm$ SD=47.6cm $\pm$ 2.2) であった (Fig. 2)。また, 各年の成熟割合は19.0～90.7% (平均 $\pm$ SD=46.2 $\pm$ 24.0%) で, 成熟割合には大きな年変化があることがわかる。

東北海域のマダラは漁獲圧が高いこともあり, 個体群は若齢魚を中心に構成されている (Fig. 3)。親魚になりうる3歳以上の資源量に占める3歳魚の割合は年によってばらつき (1996-2003年では10-96%) があり, 平均59%である。本海域のマダラの寿命が8年程度であることを考慮すると, この値は高い。また, 4歳以上の個体が少ないことから, 3歳魚の成熟率によって個体群全体の産卵数は大きく変化すると考えられる。個体群の産卵が若齢魚によって支えられているという現象はノルウェー周辺の大西洋マダラでも知られており, 個体群の親魚に占める初回成熟魚の割合は1930年代には20%台であったが, その後変動を繰り返しながらも増加し, 1980年代には80%に達する年もあることが報告されている (Jorgensen, 1990)。さらに, 初回成熟魚からは産卵を経験している個体に比べて卵のサイズが小さく, ふ化率が低い, ふ化した個体の生残率が低い, 産卵時期が遅れるなど子の生残に不利になり得るさまざまな要因が示されている (Trippel *et al.*, 1997)。マダラではこういった現象は未だ報告されていないが, 同属であるだけでなく, 後述のように資源

状態と成熟年齢には密接な関係があるなど大西洋マダラと似た特性も有することから, マダラでも親魚の若齢化による影響があるかもしれない。

では, 東北海域のマダラ3歳魚の成熟率の変異はどのような要因によって引き起こされているのだろうか。体長と成熟率の関係がロジスティック式で示すことができるように, 3歳の時の体長が大きい年級ほど成熟割合は高い (Fig. 4)。そこで, 3歳時の体長と2歳および1歳時の体長 (厳密にはそれぞれ2歳10か月, 1歳10か月および0歳10か月) を比べると, 正の相関があることが明らかになった (Fig. 5)。このことは1歳までの成長によって, その後の任意の年齢における体長がほぼ決まることを意味しており, 本種のように体サイズ依存的に成熟率が増加する場合, 将来の個体群の産卵数は初期の成長に強く影響を受けていることになる。

各年の1歳魚の加入尾数と体長との関係を調べたところ, 両者の間には負の相関が認められた (Fig. 6)。着底後のマダラは底層周辺の二次元の水域に分布し, 特に若齢期にはほぼツノナシオキアミを専食することが知られている (橋本, 1974; 山村, 1993)。また, 成長に変異が生じるのは, 陸棚上で生活している着底直後よりもむしろ陸棚斜面域に移動してからであることが耳石の日周輪観察などから示唆されている (成松, 未発表データ)。さらに0歳魚が陸棚斜面域に移動した後の生息域の底水温と体サイズの間には関連が認められていない (Fig. 7)。これらのことから, 0歳時の成長の変異は水温環境よりも同種他個体による密度依存

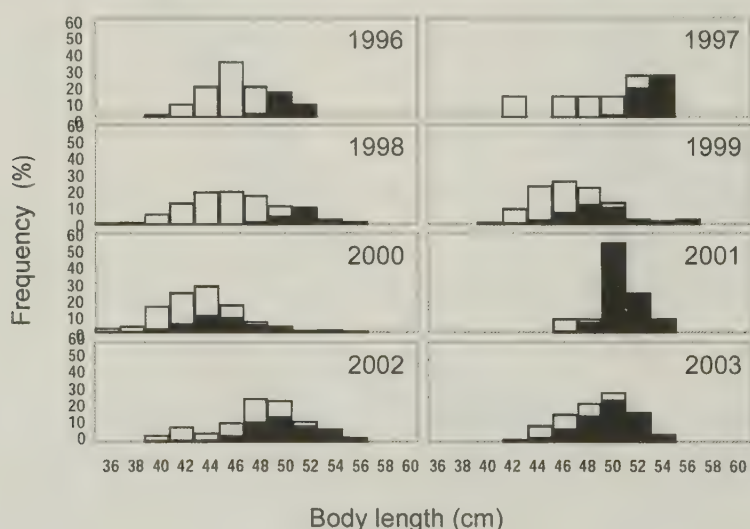


Fig. 2. Frequency distributions of body length and maturity of 3-year-old female Pacific cod during 1996-2003. Solid and open bars show mature and immature individuals, respectively.

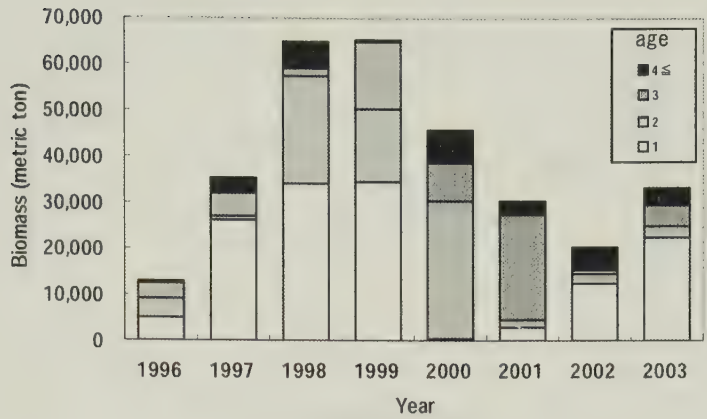


Fig. 3. Annual change of biomass-at-age of Pacific cod of the Tohoku stock. Modified from Narimatsu *et al.* (2005).

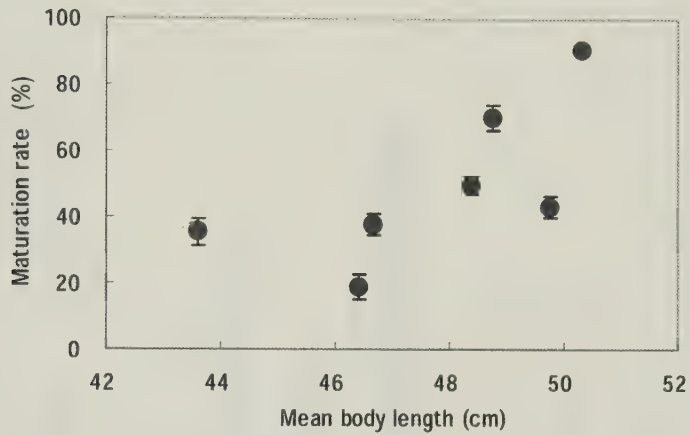


Fig. 4. The relationship between mean body length and maturation rate of 3-year-old female Pacific cod. Vertical bars show standard deviation.

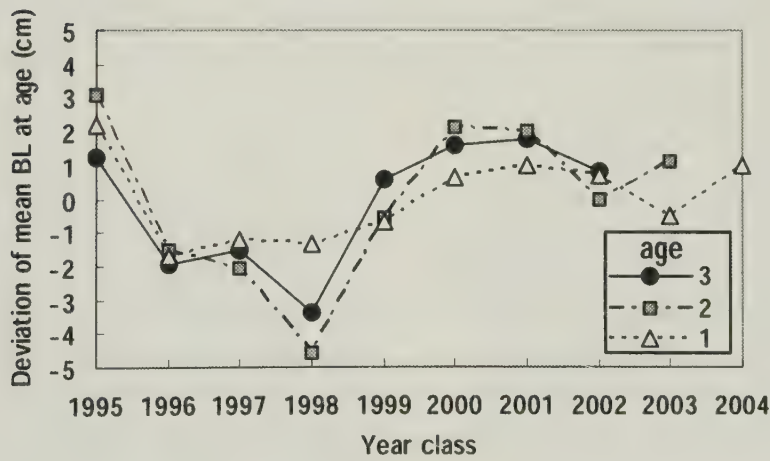


Fig. 5. Deviation of mean body length-at-age from the mean value, by year class.

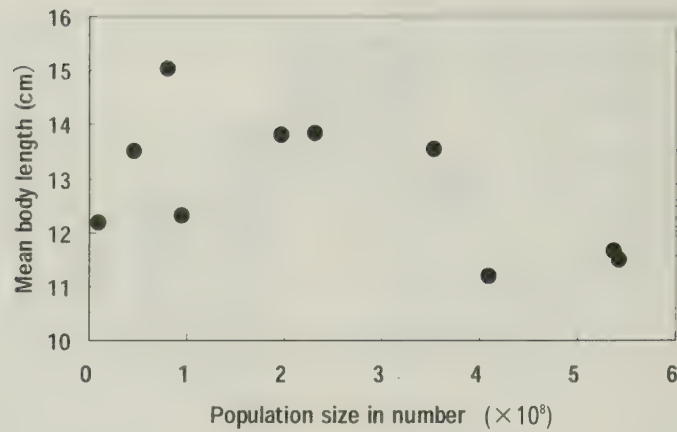


Fig. 6. The relationship between population size in number and mean body length of 1-year-old Pacific cod of the Tohoku stock.

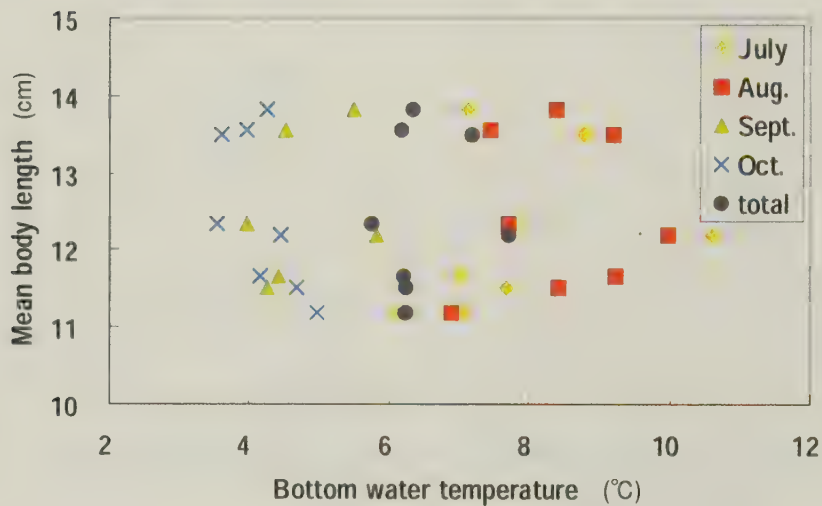


Fig. 7. Mean body length of 1-year-old Pacific cod and water temperature of bottom area where 0+ cod mainly distributed, 100m in depth in July and August, 200m in depth in September, and 300m in depth in October. Water temperature data was from Tohoku National Fisheries Research Institute archives.

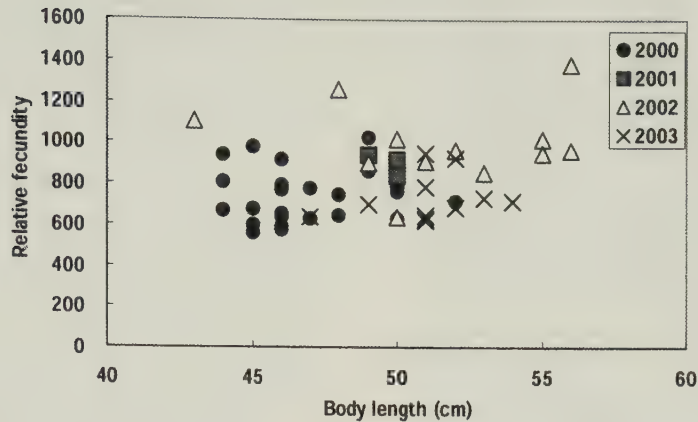
的な影響を強く受けていると考えられる。

3歳魚の成熟割合には大きな年変化が認められ、密度依存的な影響も示唆されたこと、一般的に栄養状態の向上に伴い、相対的な産卵数は増加することが報告されていることから (Bagenal, 1973; Kjesbu *et al.*, 1991), マダラの成熟魚の産卵数にも変異があるかもしれない。そこで、満3歳魚の体重1gあたりの抱卵数(相対抱卵数)と体長の関係を年別に比べてみた。

その結果、相対抱卵数は体長による影響はなかった一方で、いくつかの年級の間では差が検出された (Fig. 8)。相対抱卵数に差が生じた年級間でGSI値や卵母細胞の発達段階を比べたが、それらには違いが認

められなかったので、相対抱卵数の違いが卵母細胞の発達の度合いに影響しているとは考えにくい。そのため、抱卵数の差は産卵数の差につながると考えられる。

これらの結果をもとに、年別の相対抱卵数を用いて (1999年以前は2000~2003年の平均値) 3歳魚の抱卵数を推定した。1996~2003年における3歳魚の資源量は561トン(2001年)~22,798トン(2000年)であり (Fig. 3, Fig. 9), 最大40倍以上の差があった。ところが、上記のように成熟率や相対抱卵数が年によって異なるため、個体群全体の抱卵数では2,125億(2001年)~20,429億(2000年)と最大差は10倍以下に縮まり (Fig. 9), 単位重量あたりの抱卵数も資源量と反比例することが明



が中心となっていること、その3歳魚の成熟率には年変化があり、加入が少なく、0歳時の成長がよい年級ほど成熟率が高いことから、3歳魚の資源量の差よりも3歳魚による産卵数の差は小さくなることが明らかになった。これらの結果は、個体群の産卵数の差は発生量の少ない年級の若齢化によって緩和されることを示しており、個体群の産卵数を推定するには、年級毎に成熟率や相対抱卵数を測る必要があることを表している。

その一方で、資源変動要因を明らかにするには未だいくつかの重要な課題が残されている。たとえば、3歳魚の成熟に影響を与えていた0歳時の成長は環境よりも密度に依存していたが、その密度、つまり加入量の変動は、親魚の量とは関係が認められておらず（成松ら, 2005）、浮遊期後半の水温との関係が示唆されているものの（清水ら, 2002）、そのメカニズムは明らかにされていない。また、産卵時期、卵質、ふ化率および仔魚の生残率など繁殖成功に係わる形質はどの年齢でも調べられておらず、初めて産卵する個体の子は大西洋マダラで知られているように生残や成長において不利なのかどうなのかも明らかにされていない。これらのブラックボックスを紐解き、これまでに得られた結果と併せて検討することによって初めて本海域のマダラ資源変動要因を明らかにできると考えられる。

謝 辞

本稿をまとめるにあたり、東北区水産研究所八戸支所北川大二博士（現西海区水産研究所）、伊藤正木博士、服部 努博士、上田祐司博士、藤原邦浩博士にはさまざまな助言をいただいた。当研究所漁業調査船「若鷹丸」の乗組員諸氏にはトロール調査によるサンプル採集に、元東北区水産研究所石戸芳男氏、野田健二氏には市場によるサンプル採集にご協力いただいた。ここに記して厚く感謝の意を表する。

文 献

Armstrong M. J., Gerritsen H. D., Allen M., McCurdy W. J., and Peel J. A. D., 2004 : Variability in maturity and growth in a heavily exploited stock: cod (*Gadus morhua* L.) in the Irish Sea. *ICES J. Mar. Sci.*, **64**, 98-112.

Bagenal T. B., 1973 : Fish fecundity and its relations with stock and recruitment. *Rapp. P.-v. Reun. Cons. Int. Explor. Mer*, **164**, 186-198.

Bakkala R., 1984 : Pacific cod of the eastern Bering Sea. *Int. North Pac. Fish. Comm. Bull.*, **42**, 157-179.

Bakkala R., Westrheim S., Mishima S., Zhang C., and Brown E., 1984 : Distribution of Pacific cod (*Gadus macrocephalus*) in the north Pacific Ocean. *Int. North Pac. Fish. Comm. Bull.*, **42**, 111-115.

Barot S., Heino M., Morgan M. J., and Dieckmann U., 2005 : Maturation of Newfoundland American plaice (*Hippoglossoides platessoides*) : long-term trends in maturation reaction norms despite low fishing mortality? *ICES J. Mar. Sci.*, **62**, 56-64.

Beacham T. D., 1983 : Variability in median size and age at sexual maturity of Atlantic cod (*Gadus morhua*) on the Scotian Shelf in the Northwest Atlantic Ocean. *Fish. Bull.*, **81**, 303-321.

Beamish R.J., 1981 : Use of fin-ray sections to age walleye pollock, Pacific cod, and albacore, and importance of this method. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, **110**, 287-299.

Brown E. S. and Wilderbuer T., 1984 : Information on Pacific cod from results of a trawl survey of groundfish in the Aleutian Islands region. *Int. North Pac. Fish. Comm. Bull.*, **42**, 200-213.

Cohen M. D., Inada T., Iwamoto T., and Scialabba N., 1990 : FAO Species Catalogue. Vol.10 Gadiform fishes of the world. "*Gadus macrocephalus*" p.42-44. Roma.

Engelhard G. H. and Heino M., 2004a : Maturity changes in Norwegian spring-spawning herring before, during, and after a major population collapse. *Fish. Res.*, **66**, 299-310.

Engelhard G. H. and Heino M., 2004b : Maturity changes in Norwegian spring-spawning herring *Clupea harengus*: compensatory or evolutionary responses? *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **272**, 245-256.

Foucher R. P., Bakkala R. G., and Fournier D., 1984 : Comparison of age frequency derived by length-frequency analysis and scale reading for Pacific cod in the north Pacific Ocean. *Int. North Pac. Fish. Comm. Bull.*, **42**, 232-242.

Foucher R. P. and Westrheim S., 1984 : Numbers landed-at-age and associated standardized landing statistics for Pacific cod (*Gadus macrocephalus*) from important area-time cells

- off southwest Vancouver Island, and in Queen Charlotte Sound and Hecate Strait, 1956-82. *Can. MS Rep. Fish. Aquat. Sci.*, **1775**, 59p.
- 藤沢千秋, 夏目雅史, 1995 : 木古内湾のマダラ成魚の移動回遊. 北水試研報, **47**, 25-31.
- Hart J. L., 1973 : Pacific Fishes of Canada. *Fish. Res. Bd. Can., Bull.* **180**, 740p.
- 橋本良平, 1974: 東北海区漁場におけるマダラの食性と生息水深の変動に関する研究. 東北水研報, **33**, 51-67.
- 服部 努, 1994 : マダラの成長, 成熟および繁殖生態に関する研究. 北海道大学博士論文, 150pp.
- 服部 努, 桜井泰憲, 島崎健二, 1992 : マダラの耳石薄片法による年齢査定と成長様式. 日水誌, **58**, 1203-1210.
- 服部 努, 伊藤正木, 成松庸二, 2004 : マダラ・スケトウダラ新規加入量調査. 東北底魚研究, **24**, 146-147.
- Hattori T., Sakurai Y., and Shimazaki K. 1992 : Maturation and reproductive cycle of female Pacific cod in waters adjacent to the southern coast of Hokkaido, Japan. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **58**, 2245-2252.
- 福田慎作, 横山勝幸, 早川 豊, 中西広義, 1985 : 青森県陸奥湾口部におけるマダラ成魚の標識漂流について. 栽培技研, **14**, 71-77.
- Jorgensen T., 1990 : Long-term changes in age at sexual maturity of Northeast Arctic cod (*Gadus morhua* L.). *J. Cons. int. Explor. Mer.* **46**, 235-248.
- 菅野泰次, 上田祐司, 松石 隆, 2001 : 東北地方および北海道太平洋側海域におけるマダラの系群構造. 日水誌, **67**, 67-77.
- Kennedy W. A., 1970 : Reading scales to age Pacific cod (*Gadus macrocephalus*) from Hecate Strait. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **27**, 915-922.
- Ketchen K. S., 1970 : An examination of criteria for determining the age of Pacific cod (*Gadus macrocephalus*) from otoliths. *Fish. Res. Bd. Can. Tech. Rep.*, **171**, 42p.
- Kimura D. K. and Lyons J. L. 1990 : Choosing a structure for the production ageing of Pacific cod (*Gadus macrocephalus*). *Int. North Pac. Fish. Comm. Bull.*, **50**, 9-23.
- 北川大二, 服部 努, 成松庸二, 2002 : 東北海域における底魚資源のモニタリング. 月刊海洋, **34**, 793-798.
- Kjesbu O. S., Klungsoyr J., Kryvi H., Witthames P. R., and Greer Walker M., 1991 : Fecundity, atresia and egg size of captive Atlantic cod (*Gadus morhua*) in relation to proximate body composition. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **47**, 2333-2343.
- Klovach N. V., Rovnina O. A., and Kol'tsov D. V., 1995 : Biology and exploitation of Pacific cod, *Gadus macrocephalus*, in the Anadyr-Navarin region of the Bering Sea. *J. Ichthyol.*, **35**, 9-17.
- Lai H. L., Gunderson D. R. and Low L. L. 1987 : Age determination of Pacific cod, *Gadus macrocephalus*, using five ageing methods. *Fish. Bull.*, **85**, 713-723.
- Moiseev P. A., 1953 : Cod and flounders of far-eastern seas. *Izv. Tikhookean. Nanch No-Issled. Inst. Rybn. Khoz. Okeanogr.*, **40**, 1-287.
- 成松庸二, 伊藤正木, 服部 努, 岩崎高資, 南部竜也, 平川直人, 岡本亮介, 2004 : 2003年の底魚類現存量調査結果. 東北底魚研究, **24**, 70-78.
- 成松庸二, 伊藤正木, 服部 努, 上田祐司, 2005 : 平成16年マダラ太平洋北部系群の資源評価. 我が国周辺水域の漁業資源評価, 第2分冊, 662-672.
- 桜井泰憲, 福田慎作, 1984 : 陸奥湾に來遊するマダラの年齢と成長. 青森県水産増殖センター研究報告, **3**, 9-14.
- Sakurai Y. and Hattori T., 1996 : Reproductive behavior of Pacific cod in captivity. *Fish. Sci.*, **62**, 222-228.
- 清水勇吾, 北川大二, 成松庸二, 2002 : 東北海域におけるマダラ加入量変動の環境要因の考察. 東北底魚研究, **22**, 12-16.
- Teshima K., 1985 : Maturation of Pacific cod in the eastern Bering Sea. 日水誌, **51**, 29-31.
- Thompson J. A., 1962 : On the frequency of Pacific cod (*Gadus macrocephalus* Tilesius) from Hecate Strait, British Columbia. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **19**, 497-500.
- Toresen R., 1990 : Long-term changes in growth of Norwegian spring-spawning herring. *J. Cons. Int. Explor. Mer.*, **47**, 48-56.
- Trippel E. A., 1995 : Age at maturity as a stress indicator in fisheries. *BioScience*, **45**, 759-771.
- Trippel E. A., Kjesbu O. S., and Solemdal P., 1997 : Effects of adult age and size structure on reproductive output in marine fishes. In "Early Life History and Recruitment in Fish Populations" 31-62. eds by Chambers C. and Trippel E. A.,

Chapman & Hall London.

Westrheim S. J., 1984 : Migration of Pacific cod (*Gadus macrocephalus*) in British Columbia and nearby waters. *Int. North Pac. Fish. Comm. Bull.*, **42**, 214-222.

Westrheim S. J., and Shaw W., 1982 : Progress report on validating age determination methods for Pacific cod (*Gadus macrocephalus*). *Can. S.*

Rep. Fish. Aquat. Sci., **1670**, 41.

Westrheim S. J. and Tagart J. V. 1984 : Bathymetric distribution of Pacific cod (*Gadus macrocephalus*) off British Columbia and Washington State. *Int. North Pac. Fish. Comm. Bull.*, **42**, 189-199.

山村織生, 1993 : 仙台湾沖底生魚類群集における資源分割. 漁業資源研究会議 底魚部会報, **26**, 61-70.

親魚飼育の具体例－マダラ

手塚 信弘*

A Concrete Example for Rearing Broodstock of Pacific Cod (*Gadus macrocephalus*)

Nobuhiro TEZUKA*

Abstract Pacific cod is an important resource of many fisheries in the northern part of Japan. We have developed the technology for stock enhancement with releasing juveniles of Pacific cod since 1983. I explain the present status of rearing broodstock and some technology for collecting eggs and inducing maturation with control of rearing environments.

Key words: Pacific cod, broodstock, maturation, water temperature

マダラ (*Gadus macrocephalus*) は北部太平洋・日本海・オホーツク海等に分布する冷水系の底棲性魚類で、重要な漁獲対象種となっている (森岡ら, 1998)。水産総合研究センター日本海区水産研究所が行っているマダラ日本海系群の資源評価では、石川県以北から青森以南の日本海で漁獲されるマダラの漁獲量は1990年以降減少しており、その資源量は低位水準で横ばい傾向にあるとされている。このため、種苗放流を中心とした栽培漁業によるマダラ資源増大への期待が高まっている。

本種は広域的に分布する一方で、産卵場への回帰性を有するとされており、産卵場を中心とする地方群の存在が示唆されている (管野ら, 2001)。一方、石川県能登島周辺の水深60m帯を中心とした海域では、1月下旬から3月下旬に成熟した親魚が刺し網や定置網で漁獲されることから、本種の産卵場があると推定されている (森岡ら, 1998)。能登島栽培漁業センターでは、この能登島周辺に産卵場をもつ地方群を対象として、種苗放流を中心とした栽培漁業に関する技術開発を1983年から実施してきた。ここでは、マダラの親魚飼育に関するこれまでの経緯と現状について説明するとともに、水温等の飼育環境のコントロールによる親魚の養成および採卵技術等について報告する。

1. 対象群の特徴

能登島栽培漁業センターでは放流魚の移動範囲の解明を目的として、ふ化仔魚から1年間飼育した人工1歳魚 (全長20~30cm) の放流試験を能登島沖で実施してきた。これまで、1985年から2001年の間に計10群を放流し、2001年放流群は放流後3年間に渡って再捕報告が得られ、累積再捕率は11.7%と高かった。2001年放流群の再捕報告のほとんどは能登半島東側から北側の水深200m帯から得られており、放流魚の移動範囲は比較的狭いと考えられた。また、放流2年後 (3歳) の再捕魚は平均全長50cm、体重2.1kg、放流3年後 (4歳) には62cm、3.4kgに達し、成熟サイズに達したと考えられた。これらの事から、能登島沖で放流されたマダラは漁獲サイズまで広域に移動することなく比較的狭い範囲にとどまり、産卵回帰の可能性も高いと考えられた。

一方、マダラ仔稚魚の分布と移動を明らかにするために、能登半島中央部東岸に位置する七尾北湾で天然の卵・仔稚魚の調査 (興世田ら, 1992; 小路, 1994) 及び放流した当歳魚の追跡調査 (小路, 1994; 久門, 2000) を実施してきた。その結果、マダラは2月を盛期とする1~3月に七尾北湾湾口部の水深40~100m帯

で産卵し、ふ化仔魚は湾外から湾内へ向かう流れに輸送されて浮遊しながら七尾北湾内のほぼ全域に侵入・分布し、4月頃に稚魚に変態して着底した後、5月上旬に再び湾外に出て行くと推定された。稚魚の湾外への逸散には湾内の水温が関係しており、湾奥から湾口に向けて水温がマダラの生息水温の上限である13~14℃に上昇するのにともない、稚魚は湾奥から湾外へと逸散すると考えられた。

2. 親魚飼育

能登島栽培漁業センターでは1983年から親魚飼育、採卵、ふ化管理等に関する技術開発を開始した。1995年頃までは能登島沿岸の漁協で成熟したマダラが容易に入手できたため、これらのマダラを使用した乾導法による人工授精で受精卵を得ていた。しかし、1996年以降、マダラの漁獲量が減少して天然親魚の確保が困難になってきたため、親魚の長期飼育の技術開発に着手した。しかし、マダラは水温13℃以上で死亡するために、自然水温では親魚を越冬させることができず、冷却機を使用した親魚飼育を試みたが、冷却能力不足等の問題があり、当センターでの親魚養成は不適当と考えられた。そこで、常時3℃の海洋深層水を使用することができる富山県水産試験場において、15kl水槽2面を使用した親魚飼育に取り組み、周年飼育が可能となった(山本, 1998)。このため、2月に漁獲されたマダラを深層水施設で飼育し、翌年の採卵に使用できるようになり、親魚飼育および採卵等に関する技術開発が可能となった。しかし、飼育中に眼球の突出や白濁等による死亡があり今後の課題となっている(山本, 1998)。

3. 自然産卵による採卵

水温3℃の15kl水槽等の大型水槽で飼育したマダラの親魚は、腹部が膨満し、生殖腺が十分に発達したが、自然産卵しなかった。そこで、腹部が膨満し成熟している親魚を雌雄1尾ずつ水温10℃にした0.5~1klの小型水槽等に収容(ペアリング)したところ、ペアリング1~2時間後に自然産卵することが判明した(堀田, 1999)。成熟しても産卵しなかった個体や腹部圧迫による搾出法で採卵した個体のほとんどが死亡したのに対して、自然産卵した親魚は産卵後も生き残る個体が多く、翌年にも採卵でき、親魚の有効利用が可能となった(堀田, 1999)。

大型水槽で自然産卵しなかった要因は自然産卵にフェロモン等の何らかの物質が関係しており、大型水槽で

はその物質の濃度が低くなることが考えられた(堀田, 1999)。一方、小型水槽でのペアリングで自然産卵する要因としては、産卵に関与するフェロモン様物質の濃度が十分に高くなったことと、小型水槽の水温をマダラの生息水温に近い3℃から産卵場付近の水温に近い10℃に昇温したことが考えられた(堀田, 1999)。

しかし、ペアリングを実施しても自然産卵しない例や自然産卵しないため搾出法による人工授精を実施した例等もあった。これは成熟度の判断を目視で行っているために、適正なタイミングでペアリングを実施できていないことが一因と考えられた。今後、体重の増加率等、現場で迅速・簡易に測定できる客観的な指標を開発し、ペアリングを実施する適正なタイミングを把握する必要がある。

4. ふ化

受精卵は20lの円筒型水槽(ハッチングジャー)に収容し、自然水温の海水を底面から上向きに流してふ化まで管理した。ふ化までに要する日数は、水温6℃で15日、水温10℃で10日程度であった。この容器をふ化直前に種苗生産水槽に浮かべ、流れ出るふ化仔魚を直接、種苗生産水槽に収容した。

5. 早期採卵に関する技術開発結果

当センターでは、産卵盛期である2月に定置網で漁獲された天然魚から人工授精により採卵して種苗生産を行ってきた。マダラ稚魚の生息上限水温は約12℃とされているが(森岡ら, 2002)、当センターが位置する能登半島周辺では4月末までが自然水温で飼育可能な時期であり、この場合、種苗の全長は最大30mmである。しかし、地先海域の天然マダラの仔稚魚調査により、湾外に逸散する稚魚の全長は50mm程度であることが明らかになっているので、放流サイズの目標を全長50mmとした。このため、天然における産卵期より早期に採卵して飼育可能期間を長くすることを目的として(渡辺ら, 2005)、昇温と日長処理について検討した。

昇温による早期採卵の試みは、水温3℃で飼育した2歳の人工生産魚40尾を用いて実施した。これらの供試魚を10月に4kl角型水槽2面へそれぞれ20尾ずつ収容した。1水槽(早期昇温区)は6℃で1ヵ月間飼育した後に、もう1水槽(後期昇温区)は6℃で2ヵ月間飼育した後に、それぞれ8℃に昇温した。早期昇温区の採卵時期は3月16日~4月7日、後期昇温区は1月23日~3月17日で、早期昇温区の方が後期昇温区より

も採卵時期が遅くなった。水温 3℃の他の水槽で飼育していた同ロットの人工 2 歳魚の採卵時期は 2 月中旬で、早期昇温区の採卵時期はこれよりも約 1 ヶ月遅かった。このことから、早期の昇温は催熟に顕著な効果はみられず、逆に早期の昇温は成熟を阻害することもあることが示唆された（堀田, 2005）。

長日化による早期採卵の試みは、遮光した 15 *kl* 水槽で蛍光灯を用いて実施した。2001 年は自然日長で、2002 年の光条件は 10 月下旬から L8: D16 とし、11 月下旬から 1 週間に 2 時間の割合で明期を延ばし、12 月下旬に L18: 6D とした。2003 年は、5 月上旬から L13: 11D、9 月下旬から L8: 16D とした。さらに 11 月上旬から 10 日に 2 時間の割合で明期を延ばし、12 月中旬に L18: 6D とした。その結果、自然日長下で卵巣卵径が 650~850 μm に達したのは 1 月上旬であったのに対して、2002 年の光条件下では 12 月下旬に卵巣卵径が 650~850 μm に達し、2003 年は 11 月上旬に 550~850 μm に達した。卵巣卵径の増大は自然日長での養成に比べて、それぞれ 2 週間および 2 ヶ月程度早くなった。人工授精による採卵時期もそれぞれ 2 週間~1 ヶ月および 1~2 ヶ月早くなった（渡辺ら, 2005）。このため、2003 年では 1 月上旬での種苗生産開始が可能となり、全長約 60mm に達した当歳魚の一部に初めてアンカータグを装着して放流することができた。しかし、2004 年は早期採卵することができなかった。この原因として、夏場の寄生虫による体重の減少や施設の故障による水温の上昇等の人為的なミスが原因と考えられた。

6. 今後の課題

これまでに、深層水施設での親魚の長期飼育、ペアリングによる自然産卵での採卵手法、日長処理による早期採卵技術等の基礎的な技術が開発されてきた。今後は、十分な遺伝子の多様性をもった良質卵を適時に大量に確保する技術を開発することが重要な課題となっている。このためには、多数の親魚の成熟を同調させ、

同時に多数の親魚から採卵する技術を開発する必要がある、親魚の成熟に関する餌料や水温等の環境条件の把握およびマダラの成熟に関する内分泌系の作用機序等を明らかにする必要がある。

文 献

- 堀田和夫, 1999: マダラ親魚養成に関する技術開発. 平成 11 年度富山県水産試験場年報, 48-50.
- 堀田和夫, 2005: マダラ親魚養成に関する技術開発. 平成 15 年度富山県水産試験場年報, 62-66.
- 管野泰次, 上田祐司, 松石 隆, 2001: 東北地方および北海道太平洋側海域におけるマダラの系群構造. 日水誌, **67**, 67-77.
- 興世田兼三, 広川 潤, 長倉義智, 有瀧真人, 小林真人, 1992: 石川県能登島周辺海域におけるマダラ成魚の成熟状況と卵・稚仔魚の分布. 栽培技研, **21**, 21-30.
- 小路 淳, 1994: 石川県能登島周辺海域におけるマダラ *Gadus macrocephalus* の初期生活史および本種種苗の放流・追跡調査. 京都大学農学部 1994 年度課題研究, 1-108.
- 久門一紀, 2000: 4. 回帰型回遊性魚類の放流技術開発. 平成 12 年度日本栽培漁業協会年報, 94-96.
- 森岡泰三, 山本和久, 堀田和夫, 大槻親三, 1998: 石川県能登島沖に放流されたマダラ. 人工種苗の成長と移動. 栽培技研, **27**, 11-26.
- 森岡泰三, 桑田 博, 2002: 七尾北湾とその沖におけるマダラ稚魚の生息上限水温と食性. 日水誌, **68**, 345-350.
- 渡辺研一, 堀田和夫, 桑田博, 2005: 富山県水産試験場で海洋深層水を用いて飼育したマダラ親魚の日長処理による採卵時期の早期化. 栽培漁業センター技報, **3**, 4-8.
- 山本和久, 1998: III 種苗生産技術開発の概要 マダラ. 平成 10 年度日本栽培漁業協会年報 58-62.

マアジの水槽内産卵について

岡 雅一*・森 広一郎*

A Review on Spawning under Captive Condition in Japanese Horse Mackerel *Trachurus japonicus*

Masakazu OKA* and Koh-ichirou MORI*

Abstract A review on spawning under captive conditions in Japanese horse mackerel *Trachurus japonicus* was conducted. All successful trials of egg collection conducted during 1980 to 1983 were analyzed. The number of spawners in used broodstock group was estimated to be small. Consecutive spawning after termination of the direct effect of HCG (human chorionic gonadotropin) injection was not recognized in Japanese horse mackerel. This result was different from the results reported in the same family species, *Pseudocaranx dentex*, *Seriola dumelili*, and *Seriola quinqueradiata*. It was implied that some condition of rearing in the tank prevented the broodstock from spawning consecutively after the first spawning induced by hormonal treatment.

Key words: *Trachurus japonicus*, Japanese horse mackerel, spawning, captive condition

我国のマアジの漁獲量は1960年に55万トン記録したが(田中ら, 2001), 以後減り続け, 1980年には4万トンまで落ち込んだ(西海区水産研究所, 2004)。その後, 増加傾向が見られ1993~1998年には約20万トンを維持していたが, 1999~2003年では再び減少し12~15万トンの漁獲量で推移してきている(西海区水産研究所, 2004)。このようにマアジは, サバ類, イワシ類, サンマと同様に大きな漁獲量の変動を示す多獲性小型浮魚類であるが, 水産上の最重要種の一つであるにもかかわらず, その産卵特性の詳細は明らかにされていない。

マアジの産卵特性の調査研究については, 2つの分野が関わってきた。第一の分野は, 資源研究の分野である。産卵場の調査により産卵時期と海域の特定がなされ(依田と佐々, 2004), 産卵場と環境についての情報が集まりつつあるとともに, 天然親魚の卵巣の調査により, 資源解析における重要なパラメーターである天然親魚の1回産卵量の推定(西田, 2004)が行われ

てきた。

もう一つの分野は, 種苗生産技術開発の一環としての親養成, 採卵技術開発の分野である。マアジの養殖用種苗は, 九州, 四国においてランプ網で捕獲された天然種苗が利用されており(本間ら, 1986; 熊井, 1990), 天然種苗の供給に大きな問題がないため, 種苗生産の開発ニーズがなく, 現在, 種苗生産は行われていない(水産庁他, 2005)。このような背景から, マアジの産卵については, 産卵試験の取り組み例が少なく, わずかに1980~1983年にかけて, 種苗生産技術の開発を目的として, 天然親魚から養成した1~5歳の親を使用し, 性腺刺激ホルモンを用いて水槽内産卵させた試験例(上浦事業場, 1982; 上浦事業場, 1983; 古満目事業場, 1983; 落合ら, 1983; 落合ら, 1980; 青海と北島, 1980; 佐藤と森, 1980)があるにすぎない。

近年, 環境と資源変動の関係に関する研究に関心が集まる中, 水温履歴や餌環境と成熟, 産卵の関係を知らることは, 漁獲サンプルからでは難しいという側面が

あり、マアジについては水槽内の飼育実験により水温と成熟、産卵の関係を明らかにすることが期待されている。その第一歩として、過去に行われた水槽内採卵事例について概括する。

人工授精および天然調査による1回あたりの産卵数

マアジについて、過去に行われた採卵事例をTable 1にとりまとめた。このうち1例のみ、一本釣りによって捕獲された天然親124尾（雌雄混合）中、1尾の雌から、人工授精に使用可能な推定36~40万粒の卵を得た報告がある（佐藤と森，1980）。親魚の大きさについては明記されておらず、同群の親魚全長は34~38.5cm，370~470gであったと報告されている。また、天然魚の調査では、1回当たりの平均産卵数は、尾叉長22~26cmの天然2歳魚で約21千粒、尾叉長23~29cmの天然3歳魚で約31千粒と推定されており（西田，2004）、年齢、サイズとともに多くなると推察される。

ホルモンによる催熟

Table 1 に示した採卵事例のうち、自然産卵（用語の定義は虫明ら（2005）に従い、ホルモン注射や環境条件制御等の産卵誘発処理を全く伴わない産卵を示す）の例はなく、すべて、ホルモン催熟による誘発産卵（虫明ら（2005）に従い、自然産卵に対してホルモン注射、水温制御等の産卵誘発処理を行った産卵を示す）例である。すべての例が当初から誘発産卵を目標としていたのではなく、自然産卵を目標としていたが、自然産卵が見られないので誘発産卵に目標を切り替えた事例も含まれている。

試験に使用された親魚の年齢は1~5歳であり、天然0歳魚から2~4年養成した親を使用する例が多かった。供試親魚群の尾数は15~216尾の範囲であった。使用ホルモンはHCG（ヒト胎盤性生殖腺刺激ホルモン，human chorionic gonadotropin）とハクレン脳下垂体の2種であり、併用例も見られた。前者の1尾当たりの投与量は、100~300IU/尾の範囲であり、後者については、1.65~2.2mg/尾であった。併用の場合HCG 200~300IU/尾およびハクレン脳下垂体4~5.5mg/尾であった。産卵水槽には6~70m³水槽が使われたが、6~12m³の小型水槽収容例が多かった。産卵水温は16~22.2℃の範囲であった。HCG打注から産卵までは、32.5~37時間であった。

また、落合ら（1980）は、生殖腺の成熟の季節的変化を調査しており（Fig. 1），それによれば、第三次卵黄球期以降のステージが見られるのは4月初旬から5

月中旬までの約1ヵ月間で、水温範囲では18~21.5℃であった。

過去の採卵事例で、最も多い採卵数は149万粒であった。各試験例における産卵関与親の尾数は不明であり、1尾の雌から36~40万粒を採卵した人工授精例から推測すると、各例とも親群中、数尾の雌が産卵に関与したと考えられる。また、Fig. 1によれば、成熟期に第三次卵黄球期まで至っている雌は、群のうち一部であるという事実が示され、これからも産卵関与した雌の割合は低いという仮説が支示される。

親養成技術開発が行われてきたアジ科のシマアジ（虫明と中野，2005；虫明ら，2003）、ブリ（虫明，1996；楳田，1991）、カンパチ（兼松，1991）は、産卵誘発にHCGを用いた場合、初回産卵後、産卵が多回にわたって認められるが、これはHCG打注により、初回の排卵および産卵に至った後、自らの生殖腺刺激ホルモン、ステロイドなどの生殖内分泌系が活性化されるために産卵が継続すると考えられる（楳田，1991）。一方、マアジでは、1産卵期に少なくとも2回以上は産卵すると推定されている（三淵ら，1958；山田，1958）多回産卵魚であるので、HCGに初回は反応するものの、その後、生殖内分泌系が活性化されないか、あるいは、継続的な産卵を阻害する何らかの環境要因が作用していることが考えられる。

今後の技術開発

虫明ら（2005）は、シマアジのウイルス性神経壊死症対策の記述の中で、HCG注射がストレス負荷の要因になり得る可能性を報告しており、HCG注射は初産魚の産卵を誘発するには有効な方法であるが、その翌年以降、水温等の産卵至適環境条件を制御するだけで産卵を開始する、いわゆる「産み癖」がついた後には、HCG注射に依存しない産卵誘発方法を採用すべきであるとしている。マアジについても、自然産卵を目的とした技術開発をすすめる上で、この方法は検討されるべきであろう。また、ホルモンを使用した誘発産卵の場合においても、通常の方法では、産卵に関与した尾数が不明となる。この問題を解決するためには、産卵後すべてをサンプリングし、卵巣の排卵痕を確認することで、産卵に関与した親数を知ることが可能である。あるいは、卵や仔魚のマイクロサテライトDNA分析により、親を特定できる技術はヒラメ（Hara and Sekino, 2003）、キハダ（Niwa *et al.*, 2003）で報告されており、このような技術を用いて、水槽内で産卵雌1尾の1回の産卵数の特定は可能であると思われる。

Table 1. マアジ採卵例のとりまとめ.

親 魚	尾数 (雌:雄)	平均サイズ, 範囲	催 熟 方 法	産卵水槽	産卵水温	産卵 回数	浮上卵 (万粒)	沈下卵 (万粒)	合計 (万粒)	備 考	文 献	年
2 年養成 3 歳	88	TL:32.9cm BW:351g	HCG200IU/尾	70m ³ 水槽	20.3~22.2℃	1 回	18	72	90		佐藤・森	1980
非養成天然魚	124	TL:34~38.5cm BW:320~470g		雌 1 尾のみ 人工受精		1 尾	29	11	40	1 粒2200粒で 換算		
養成 4 歳	20 (6:14)	体長:23.6~27.6cm BW:200~350g	HCG200IU/尾 1 回打注	10m ³ 水槽	19℃前後	3 回			多数	雌 6 尾中 4 尾に 排卵痕	落合ら	1980
養成 3 歳	25	—	HCG200IU/尾 1 回打注	10m ³ 水槽	19℃前後	2 回			2.8			
養成 3 歳	40	—	HCG200IU/尾 1 回打注	10m ³ 水槽	19℃前後	1 回			12	産卵まで 35~36時間		
1 年養成年齢不明	36	FL:29cm BW:371g	ハクレン脳下垂体 6 mg/kg	12m ³ 水槽	16~17℃	1 回	99	50	149	1 粒2200粒で 換算	青海・北島	1980
1 年養成年齢不明	15	FL:28.5cm BW:343g	ハクレン脳下垂体 3 mg/kg	12m ³ 水槽	16~17℃	1 回	48	40	88	産卵まで 35~37時間		
1 年養成年齢不明	15	FL:28.5cm BW:343g	ハクレン脳下垂体 1.5mg/kg	12m ³ 水槽	16~17℃	1 回	71	15	86			
人工 1 歳	51 (26:25)	FL:15.2~20cm	HCG100IU/尾 1 回打注	6m ³ 水槽	20.5~21.8℃	1 回	不明	不明	不明	産卵まで32.5時間 産卵数不記載	落合ら	1982
養成 3, 4 歳	180	FL:30.2cm BW:469g	HCG200IU/尾+ハクレン 脳下垂体4.6mg/尾	60m ³ 水槽		1 回			26.3		上浦事業場	1982
養成 3, 4 歳	216	FL:30.2cm BW:469g	HCG200IU/尾+ハクレン 脳下垂体4mg/尾	小割網 (7 × 7 × 3 m)		1 回				1 粒2200粒 で換算	上浦事業場	1982
養成 4, 5 歳	180	FL:33.6cm BW:454g	HCG200IU/尾+ハクレン 脳下垂体5.5mg/尾	60m ³ 水槽	21℃	1 回	45	不明	不明		上浦事業場	1983
養成 3 歳	20	FL:26.2cm BW:455g	ハクレン脳下垂体 1.65~1.8mg/尾	10m ³ 水槽	20℃	1 回	40	不明	不明		古満日事業場	1983

注 3 年養成 3 歳魚とは、天然幼魚から 3 年間養成し 3 歳魚の時に産卵試験に使用したことを示す。養成の前に年数がない場合は養成年数不明。

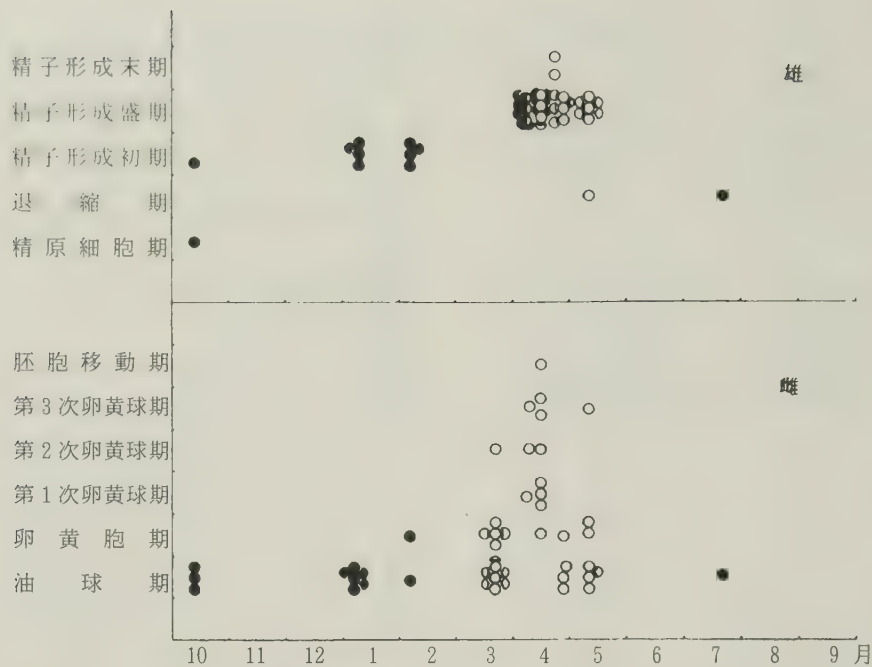


Fig. 1. 養成マアジ生殖腺の成熟の季節的变化. ●, 2歳魚, ○, 3歳魚, ◐, 4歳魚.
(落合ら, 「マアジの採卵とふ化仔魚の成長について」栽培漁業技術開発研究 1980;
9: 47-52から引用)

謝 辞

九州大学松山倫也教授には、有益な情報と御指導を頂いた。深謝いたします。

文 献

- Hara M. and Sekino M., 2003: Efficient detection of parentage in a cultured Japanese *Paralichthys olivaceus* using microsatellite DNA marker. *Aquaculture*, **217**, 107-114.
- 本間昭郎, 白旗 総一郎, 鬼頭 鈞, 菅野 尚, 1986: 第2章種苗 浅海養殖, 大成出版社, 東京, pp. 50-73.
- 上浦事業場, 1982: 新しい栽培種として期待される魚類 マアジ成体の確保と採卵. 日本栽培漁業協会年報 昭和56年度, 34-35.
- 上浦事業場, 1983: 新しい栽培種として期待される魚類 マアジ成体の確保と採卵. 日本栽培漁業協会年報 昭和57年度, 20-21.
- 兼松正衛, 1991: カンパチ (八重山事業場). 日本栽培漁業協会事業年報 平成元年度, 49-50.
- 古満目事業場, 1983: 新しい栽培種として期待される魚類 マアジ成体の確保と採卵. 日本栽培漁業協会年報 昭和57年度, 21.

- 熊井英水, 1990: 1. マアジ. 活魚大全. フジテクノシステム, 東京, pp. 497-500.
- 三淵英弘, 岸本源治, 塩見元晶, 相川広秋, 1958: マアジの年令, 成長, 及び成熟. 対馬暖流開発調査報告, **4**, 133-144.
- 虫明敬一, 1996: シマアジおよびブリの親魚養成技術の開発に関する研究. 日本栽培漁業協会 特別研究報告, **9**, 1-62.
- 虫明敬一, 中野昌次, 2005: 3採卵. シマアジ親魚養成に関する技術開発成果. 独立行政法人水産総合研究センター 栽培漁業技術シリーズ, 20-29.
- 虫明敬一, 本藤 靖, 崎山一孝, 浜田和久, 堀田卓郎, 吉田一範, 2003: 日本栽培漁業協会における親魚養成技術開発の現状と今後の課題. 栽培漁業技術開発研究, **30**, 79-100.
- 西田 宏, 2004: 産卵場形成とその環境、マアジの産卵特性. 「水産学シリーズ139、マアジの産卵と加入機構、一東支那海から日本沿岸へ」(日本水産学会監修, 原一郎, 東海 正編), 恒星社恒星閣, 東京, pp. 11-18.
- Niwa Y., Nakazawa A., Daniel M., Vernon P. S., Jeanne B. W., and Chow S., 2003: Genetic monitoring for spawning ecology of captive yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) using mitochondrial DNA variation. *Aquaculture*, **218**, 387-395.

- 落合 明, 睦谷一馬, 榎田 晋, 1983: 養殖1歳マアジの成長, 成熟および人工産卵について. 日水誌, **49**, 541-545.
- 落合 明, 榎田 晋, 長谷川 泉, 睦谷一馬, 1980: マアジの産卵とふ化仔魚の成長について. 栽培漁業技術開発研究, **9**, 47-52.
- 青海忠久, 北島 力, 1980: マアジの種苗生産. 栽培漁業技術開発研究, **9**, 53-60.
- 佐藤 博, 森 保樹, 1980: マアジの種苗生産. 栽培漁業技術開発研究, **9**, 61-68.
- 西海区水産研究所, 2004: マアジ, 対馬暖流系群. 我が国周辺水域の漁業資源評価 (魚種別系群別資源評価ダイジェスト版), pp. 31-34.
- 水産庁, 独立行政法人水産総合研究センター, (社)全国豊かな海づくり推進協会, 2005: 平成15年度栽培漁業種苗生産 入手・放流実績 (全国) 資料編. 71-81.
- 田中昌一, 川崎 健, 森田 祥, 土井長之, 2001: 2.8水産資源各論. 新水産ハンドブック, 講談社サイエンティフィク, pp. 342-347.
- 榎田 晋, 1991: 7, ブリ, 「水産学シリーズ85 海産魚の産卵成熟リズム」 (広瀬慶二編), pp. 92-100.
- 山田鉄雄, 1958: アジに関する研究. 対馬暖流開発調査報告, **4**, 145-176.
- 依田真里, 佐々千 由紀, 2004: マアジの産卵場の特定と海洋環境, 「水産学シリーズ139、マアジの産卵と加入機構、一東支那海から日本沿岸へ」 (日本水産学会監修、原一郎, 東海正編) 恒星社恒星閣, 東京, pp. 19-30.

養成クロマグロの産卵に及ぼす水温の影響

升間主計^{*1,6}, 手塚信弘^{*2}, 小磯雅彦^{*2}, 神保忠雄^{*3}, 武部孝行^{*1}, 山崎英樹^{*4}, 尾花博幸^{*5},
井手健太郎^{*1}, 二階堂英城^{*1}, 今泉 均^{*1}

Effects of Water Temperature on Bluefin Tuna Spawning Biology in Captivity

Shukei MASUMA^{*1,6}, Nobuhiro TEZUKA^{*2}, Masahiko KOISO^{*2}, Tadao JINBO^{*3},
Takayuki TAKEBE^{*1}, Hideo YAMAZAKI^{*4}, Hiroyuki OBANA^{*5},
Kentarou IDE^{*1}, Hideki NIKAIDO^{*1}, and Hitoshi IMAIZUMI^{*1}

Abstract Effects of water temperature on the periodicity of spawning, egg size, and spawning time were examined for the bluefin tuna *Thunnus orientalis* in captivity. Spawning of bluefin tuna was observed for the period between May 13 and November 10, which is a longer spawning duration than the previous reports for bluefin. The spawning pattern suggested that the initiation and duration of spawning are affected by a rapid change of water temperature (WT) from 23 °C before spawning. The quick increase in the WT from 23 °C induces early spawning and it continues for a longer duration. Mean egg diameter ranged from 0.90~1.06 mm and the minimum egg size was 0.83 mm. There was a strong inverse relationship between egg diameter and WT. In this study spawning was observed between 17:31-23:36. Spawning of bluefin as late as 23:30 has not been reported in past studies. A strong correlation between WT and spawning time was observed (as WT increased the time of spawning became later). In this study, it was apparent that water temperature strongly influenced the periodicity of spawning, egg size, and spawning time of bluefin. This information could be vital for managing broodstock of bluefin tuna.

Key words: bluefin tuna, *Thunnus orientalis*, spawning in captivity, spawning duration, spawning initiation, egg size, spawning time, water temperature

我が国にとってマグロ類は極めて重要な水産資源であるとともに、広域回遊魚として広く世界に分布するため、関係各国からも強い関心が示されている。特にクロマグロ *Thunnus orientalis* は他のマグロ類に比べ

て大型で魚価が高いため、国際的な漁業資源として位置付けられ、その保存・管理措置について厳しい議論がある。このようにマグロ漁業への規制が提唱される一方で、日本は世界的規模で本種の漁業を行い、最も

2006年1月6日受理 (Accepted on January 6, 2006)

*1 奄美栽培漁業センター 〒894-2414鹿児島県大島郡瀬戸内町俵崎山原955-5 (Amami Station, National Center for Stock Enhancement, Fisheries Research Agency, Setouchi, Oshima, Kagoshima 894-2414)

*2 能登島栽培漁業センター 〒926-0216石川県七尾市能登島曲町15-1-1 (Notojima Station, National Center for Stock Enhancement, Fisheries Research Agency, Notojimamagari, Nanao, Ishikawa, 926-0216)

*3 南伊豆栽培漁業センター 〒415-0156静岡県賀茂郡南伊豆町石廊崎183-2 (Minamiizu Station, National Center for Stock Enhancement, Fisheries Research Agency, Minamiizu, Kamo, Shizuoka, 415-0156)

*4 屋島栽培漁業センター 〒761-0111 香川県高松市屋島東町234 (Yashima Station, National Center for Stock Enhancement, Fisheries Research Agency, Yashimahigashi, Takamatsu, Kagawa, 761-0111)

*5 水産総合研究センター本部 〒220-6115神奈川県横浜市西区みなとみらい2-3-3 (Fisheries Research Agency, Minatomirai, Nish, Yokohama, Kanagawa, 220-6115)

*6 現所属：宮津栽培漁業センター 〒626-0052 京都府宮津市小田宿野1721 (Miyazu Station, National Center for Stock Enhancement, Fisheries Research Agency, Odashukuno, Miyazu, Kyoto 626-0052, Japan. TEL: 0770-25-1306. Fax: 0772-25-1307. Email: masuma@fra.affrc.go.jp)

消費が多いことから、資源保護に関して責任ある立場を求められている。その意味においても、日本がクロマグロ資源管理の一環として、栽培漁業を用い本種の資源増大へ貢献することは非常に重要な意義があると考えている。

(独)水産総合研究センター奄美栽培漁業センターでは、栽培漁業を進める上で重要である養成クロマグロの成熟・産卵生態について把握し、良質な卵を安定的かつ大量に採卵する技術の開発を進めている。親魚の成熟、産卵に関して、環境要因が大きく関わっていることが知られているが(古川, 1991), 以下、養成クロマグロの産卵に関して、特に、産卵期間、卵径および産卵時刻に対する水温の影響を検討したので報告する。

材料および方法

親魚

本研究に用いた養成クロマグロの親魚群をTable 1に示す。1987年と1988年に高知県沖で7～8月に漁獲され、奄美大島の民間養殖業者によって育てられた群を、1997年3月に奄美栽培漁業センター(当時、日本栽培漁業協会)地先の直径40m円型生簀網(Fig. 1)に収容して飼育を行った(G-1)。なお、年級群の混合比率は不明である。G-2及びG-3は1993年に高知県沖で8月に漁獲され、沖縄県本部町の民間養殖業者によって約1年間育てられ、1994年6月に189尾を当センター地先の40m円型生簀網に収容して飼育を開始した。1995年9月に95尾を湾の奥と沖側を網で仕切った飼育施設(以下、仕切網)へ移し、これをG-3とし、生簀網に残った群れをG-2として飼育を継続した。G-4は1996年8月に高知県沖で漁獲され、10月に当センター地先の40m円型生簀網に収容して飼育を開始した。G-5は1999年8月に高知県沖で漁獲され、9月に122尾を20m円型生簀網へ収容して飼育し、2003年4月に40m生簀網へ移して飼育を継続した。なお、伊藤(2004)が耳石日輪の解析から求めた日齢と尾叉長の関係に基づき、高知県沖で漁獲されるヨコワ(クロマグロ幼魚)は孵化時期が約2～2.5ヵ月前と推定されることから、6月1日を誕生日とし、便宜的に親魚群の年齢を決めた。しかし、産卵が5月から開始された場合には混乱を避けるために、加齢後の年齢で示した。

産卵の確認と採卵方法

産卵の確認は5月初旬から開始した。午後6時頃から9時頃まで筏上に待機し、親魚の行動を観察しつつ、適宜、表層をタモ網で掬い、浮上した卵の確認等を行いながら産卵の開始を待った。なお、予め生簀網内で産卵された卵が浮上して生簀網の網目から流出しない

ように、生簀網の内側に深さ約2mのビニールシートを張った。仕切網ではそのようなことは行わなかった。生簀網では産卵後に海表面に浮いた卵をタモ網(テトロン布製)または巻き網(ナイロン製ネット[70メッシュ]、深さ55cm、長さ53m、上部に発泡製丸棒フロート[直径30mm]、下部に鉛入りロープ[80g/m])を用いて採取した(Fig. 2)。また、仕切網での採卵は、目視で産卵を確認した後、曳き網(枠の大きさ:130×70cm、網の長さ:180cm、網はナイロン製ネット[50メッシュ])をボートの舷側に取付け、微速で前進しながら表層に浮いた卵を採取した(Fig. 2)。

卵径の測定

採取した卵から浮上卵のみを採り、産卵親魚群毎に17～242粒の卵径を、ビデオマイクロメーター(VM-30, オリンパス(株), 東京)を用いて光学顕微鏡(BX-40, オリンパス(株), 東京)下で測定し、平均値をその卵径とした。

産卵の観察と産卵時刻の推定

産卵を開始する前に筏で待機し、親魚の行動を観察したが、2～3カ所に親魚を養成していた年では、1カ所の採卵が終了して次の親魚群へ移動した時には既に産卵が終わっている場合もあった。産卵は激しい追尾行動の後、生簀網または仕切網内の表層で観察され、その直後に卵が認められた場合に、その時刻を産卵時刻とした。1回目の産卵後も産卵が断続的に観察される場合もあったが、今回の検討では最初に観察した産卵行動をその日の産卵時刻とした。また、前述のように産卵確認が遅れた場合や生簀網内の低層から中層で産卵が行われ明確な産卵行動が観察されず、表層に浮上した卵で産卵を確認した場合には、その時の表面水温をもとに、受精から観察時の発生段階までの時間を以下の式を用いて算出し、産卵時刻を推定した(升間, 未発表)。

$$2 \text{ 細胞期: } Y = 198.8e^{-0.0584X} \quad r = -0.966 \quad P < 0.05 \quad n = 4$$

$$4 \text{ 細胞期: } Y = 365.9e^{-0.0707X} \quad r = -0.983 \quad P < 0.05 \quad n = 4$$

$$8 \text{ 細胞期: } Y = 598.3e^{-0.0799X} \quad r = -0.997 \quad P < 0.01 \quad n = 4$$

$$16 \text{ 細胞期: } Y = 898.4e^{-0.0875X} \quad r = -0.983 \quad P < 0.05 \quad n = 4$$

$$32 \text{ 細胞期: } Y = 854.9e^{-0.0798X} \quad r = -0.995 \quad P < 0.01 \quad n = 4$$

$$\text{初期桑実期: } Y = 1084.2e^{-0.0817X} \quad r = -0.998 \quad P < 0.01 \quad n = 4$$

$$\text{後期桑実期: } Y = 1345.6e^{-0.0810X} \quad r = -0.996 \quad P < 0.01 \quad n = 4$$

Xは表面水温、Yは受精からの経過時間(分)を示す。

環境測定

環境観測は朝9時から10時の間に行った。水温はメモリー水深・水温計(ABT-1, アレック電子(株), 東京)を用いて1m毎に測定した。なお、日照、天候等の影響を受けやすい表面水温でなく、比較的安定し

Table 1. Age, size, and collection information for bluefin broodstock.

Year class	Broodstocks	Facilities for captive	At commencement				Remarks
			Date	Age	Number (inds.)	Body weight (kg)	
1987, 1988	G-1	ø 40m Circular sea pen	1997. 3.23	8+9	17	250*	Before introduction to our sea pen, this group had been captured on the offshore of Kochi in 1987 and 1988, after that maintained for 8-9 years by marine farmer of Amami
1993		ø 40m Circular sea pen	1994. 6. 8	1	189	8.3	Before introduction to our sea pen in 1994, this group had been captured on the offshore of Kochi in 1993 and maintained at a private farm in Okinawa for one year. After about 16 months after introduction, 95 out of 172 fishes survived till then were moved to the barrier net closed cove
	G-2	Ditto			77		
	G-3	Barrier net closed cove	1994.10.16	2	95	46*	
1996	G-4	ø 40m Circular sea pen	1996. 9. 3	0	291	0.3	Before introduction to our sea pen, this group had been captured on the offshore of Kochi
1999	G-5	ø 40m Circular sea pen	1999. 9. 7	0	122	0.5	Ditto

* body weight estimated

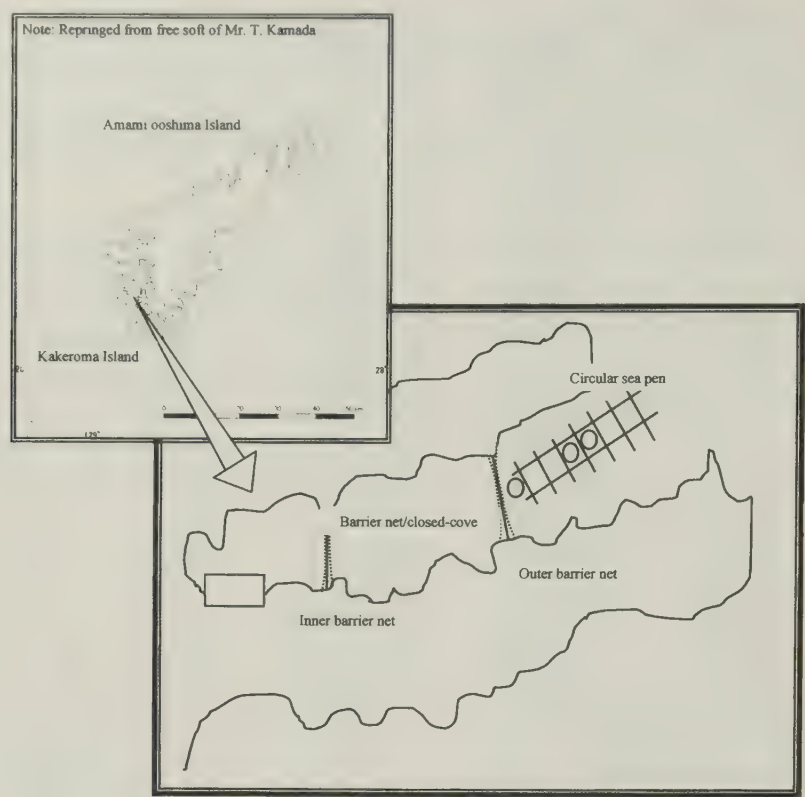


Fig. 1. Location of the Amami Station of National Center for Stock Enhancement.

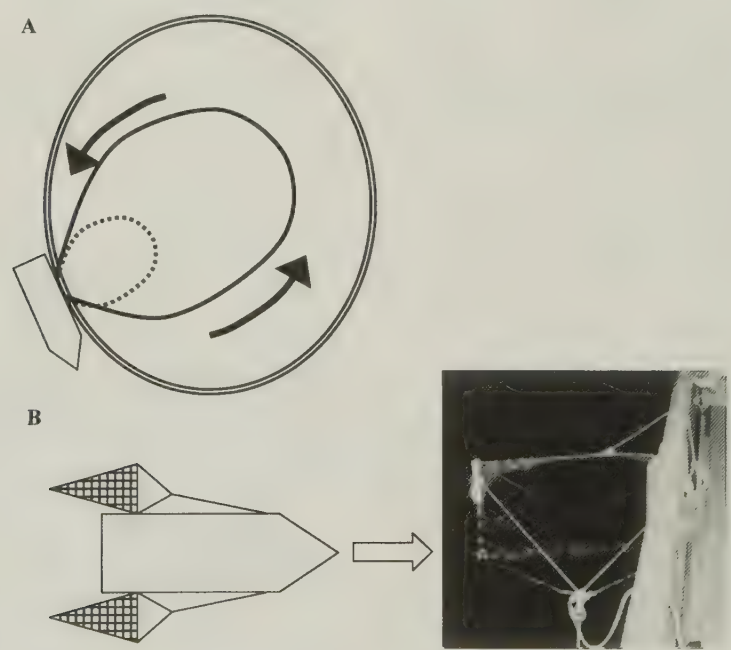


Fig. 2. A: Method of egg collection at the circular sea pen with the long egg seine and dip net. B: Egg collection at the barrier net closed cove by towing two nets attached to both sides of a boat just after spawning. A dip net also has been used. This method has been using for collecting eggs since 2002. From 1999 - 2002, a single towing net was used. In 1998, when spawning first occurred in the barrier net closed-cove, we used an egg seine and dip net to collect eggs.

ている水深10mでの測定値をその時の水温とした。

統計解析

統計解析には統計ソフトStatViewを用い、回帰分析、フィッシャーの r の Z 変換による相関係数の検定を行った。時刻を検討する際はMicrosoft Excel (Microsoft Office XP Personal) の時刻形式を標準に変換した数値を用いて、回帰分析等の解析を行った。この場合、回帰式で得られた数値を時刻形式に変換することで時刻が得られる。統計的有意差は危険率 0.05以下で評価した。

結 果

産卵期間

クロマグロ養成海域 (Fig. 1) での水温変化をFig. 3に示した。年平均は23.7~24.9℃, 最低が19.2℃, 最高が29.8℃であった。年によるばらつきが大きく、各年間では季節によって約1~4.5℃の差があり、特に、8月の温度差が大きかった。次いで、9月、6月が大きく、この時期は台風と梅雨の時期にあたっている。

Table 2 に産卵状況を示した。産卵開始日は5月13日から8月3日、産卵終了日は7月6日から11月10日と年や親魚群により異なった。また、1シーズンの産卵日数も2~74日とばらつきがあった。産卵開始時の水温は23.5~29.0℃, 終了時水温は24.3~29.6℃であった。

産卵開始日、産卵期間および産卵日数と水温の関係

を調べるために、その年に初めて21, 22, 23℃に水温が達した日からそれぞれ22, 23, 24℃に達するまでの日数と、産卵が23℃以上で行われたことから、23℃から産卵を開始するまでの日数、さらに産卵期間、産卵日数についてそれぞれ回帰分析、相関係数の検定を行った。なお、産卵の多くが夜暗くなってから行なわれていることから、産卵された卵を全て回収しておらず、また、卵の採集には天候条件 (風雨など) の影響を大きく受ける他、生簀網内に侵入したミズン *Herklotsichthys quadrimaculatus* (平均体重31.8 g) が産卵直後に1尾当たり3,000~4,800粒を摂餌しているなど、小魚による食害が多く、採卵数が産卵数を正確に反映していないため、採卵数については解析を行わなかった。

Fig. 4 に水温23℃から産卵開始までの日数と、22および23℃から24℃に達するまでの日数との関係を示した。22から24℃に達するまでの日数との間に有意な相関は認められなかったが ($P>0.05$), 相関係数は0.539と、両者に正の相関が窺えた。23から24℃に達するまでの日数との間には強い正の相関が認められ ($P<0.01$), 23℃に達してから24℃までの水温上昇が短い日数であるほど、産卵開始までの日数が短く、長くかかるほど産卵開始が遅れることが示唆された。なお、他の解析結果ではいずれも相関が認められなかった。また、23℃から産卵開始までの日数と産卵期間、産卵日数との間の相関を調べたところ、産卵日数との間には有意な

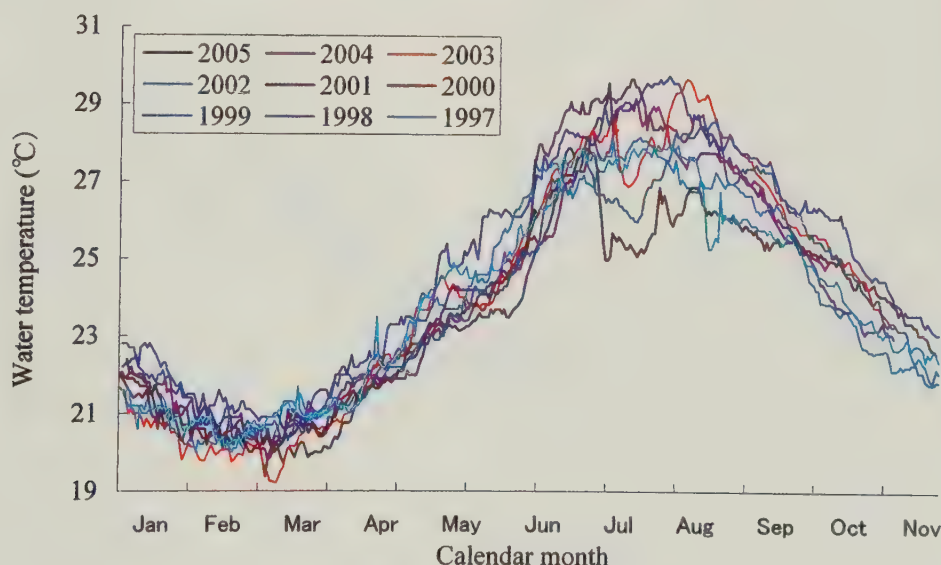


Fig. 3. Seasonal changes of water temperature at 10 m depth around the broodstock sea pen.

Table 2. Summary of results for bluefin tuna spawning.

Year	Group names	Ages estimated	Spawning period (Days)	Number of broodstock ¹	Total eggs collected (X10 ⁴)	Mean percentage of buoyant eggs (Ranges) (%)	Mean percentage of eggs hatching normally (Ranges) (%)
1997	G-1	9+10	5.13~7.12 (25)	17	433	99.1 (68.6~100)	83.3 (58.3~100)
1998	G-1	10+11	5.23~8.13 (49)	7	17,430	98.1 (89.7~100)	87.6 (26.3~100)
	G-2	5	7.28~8.24 (19)	48	1,256	99.1 (88.2~100)	91.1 (65.6~100)
	G-3	5	8.3~8.22 (8)	74	435	100 (96.7~100)	83.6 (23.8~98.5)
1999	G-1	11+12	6.21~8.7 (13)	3	2,028	93.3 (71.9~100)	58.3 (26.1~90.4)
	G-2	6	6.29~9.14 (45)	45	480	96.7 (0~100)	83.9 (46.6~97.1)
	G-3	6	5.27~9.14 (32)	73	1,750	97.6 (88.2~100)	64.9 (7.1~96.5)
2000	G-2	7	6.22~10.27 (32)	35	1,994	99.2 (92.9~100)	81.3 (0~96.8)
	G-3	7	6.10~9.29 (19)	68	2,218	96.6 (79.2~100)	72.9 (2.8~94.2)
2001	G-2	8	5.25~7.18 (17)	32	1,633	87.7 (40.0~100)	82.9 (41.1~97.6)
	G-3	8	5.28~11.10 (22)	63	1,246	97.1 (88.9~100)	75.3 (20.8~95.2)
	4	S	5.27~8.28 (23)	96	54	94.5 (59.1~100)	79.6 (31.1~96.8)
2002	G-2	9	6.3~7/6(10)	22	823	88.8 (62.5~100)	86.3 (77.1~93.0)
	G-3	9	5.13~9/29 (44)	54	36,392	94.9 (46.1~100)	79.2 (11.1~98.4)
	G-4	6	5.14~9/17 (74)	75	10,998	93.2 (51.3~100)	76.0 (0~95.7)
2003	G-2	10	—	10		No spawning	
	G-3	10	5.19~6.23 (8)	53	1,175	94.4 (78.9~100)	65.4 (5.6~90.2)
	G-4	7	6.30~8.26 (41)	65	5,308	96.0 (78.9~100)	78.8 (40.8~90.7)
2004	G-2	11	—	2		No spawning	
	G-3	11	6.6~7.18 (5)	53	555	100.0	69.6 (52.6~83.7)
	G-4	8	—	55		No spawning	
	G-5	5	7.16 (1)	49	152	100.0	65.1
2005	G-3	12	—	ca. 20 ²		No spawning	
	G-4	9	—	12		No spawning	
	G-5	6	7.15~7.16 (2)	40	8	100.0	85.2 (83.2~87.2)

¹ shows number of fish in broodstock shows it at date started to spawn.

² shows number determined with scuba diving.

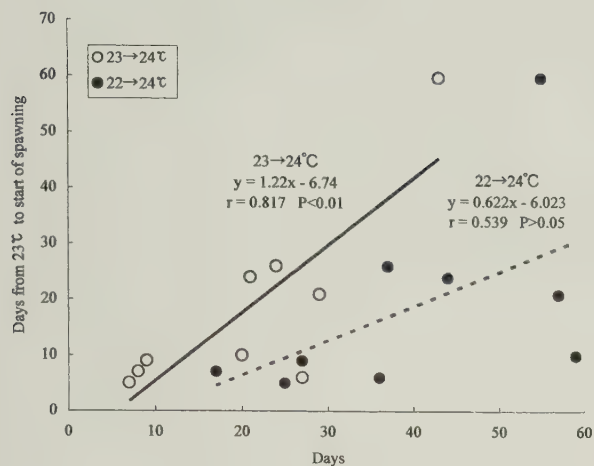


Fig. 4. Relationships between days elapsed from the first occurrence of water temperatures of 23°C to start of spawning and elapsed days from 22 or 23 to 24 °C.

相関が認められなかったが ($P > 0.05$), 産卵期間との間には有意な負の相関が認められた ($P < 0.05$) (Fig. 5). すなわち, 23°Cに達した後, 短期間に産卵に達したとき, 産卵期間が長くなることが示唆された。

卵径の変化

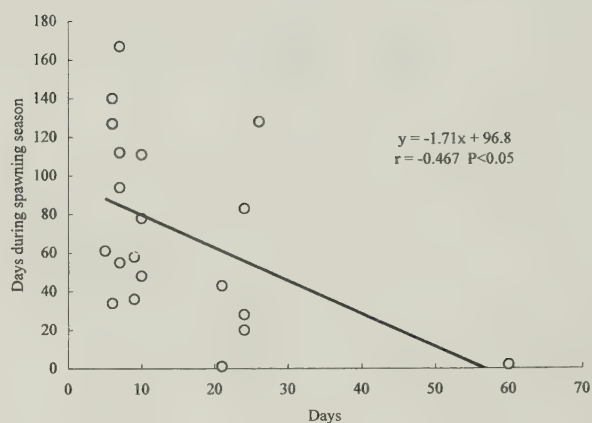


Fig. 5. Relationship between duration of the spawning season and days elapsed from 23 degrees at the start of spawning.

Fig. 6 に全ての卵径データを示した。ばらつきは見られるものの, 卵径は産卵初期に大きく, 産卵の進行に伴い徐々に小型化し, その後再び大きくなる傾向が認められた。卵径の範囲は0.90~1.06mmであった。測定した卵の内, 最小は0.83mm, 最大は1.16mmであった。

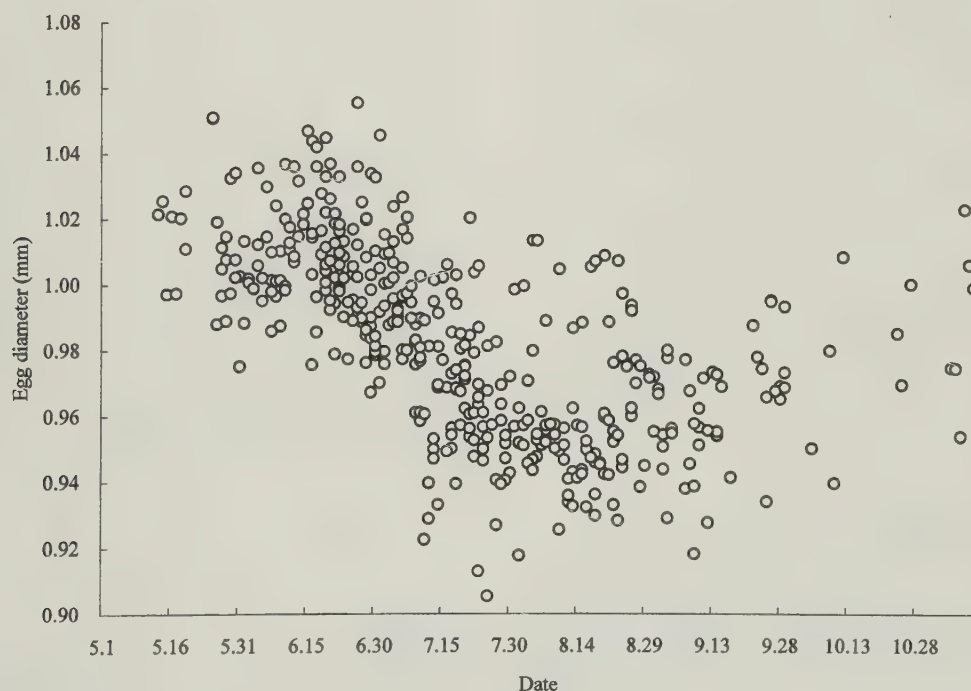


Fig. 6. Egg diameter for each spawning event of bluefin tuna.

Table 3. Results of simple regression analysis between water temperature and mean egg diameter at each data sets obtained from bluefin spawning in captivity.

Year	Group names	Ages estimated	Correlation coefficients	Number of data sets	Slopes	Intercepts	Value of probability	Remarks
1998	1	10+11	0.795	39	-0.0150	1.39	<0.01	..
	2	5	0.482	10	-0.0125	1.31	0.16	NS
	3	5	0.206	5	0.0057	0.787	0.74	NS
1999	1	11+12	0.802	13	-0.0150	1.38	<0.01	..
	2	6	0.789	43	-0.0235	1.62	<0.01	..
	3	6	0.712	29	-0.0135	1.32	<0.01	..
2000	2	7	0.416	33	-0.0136	1.35	0.016	.
	3	7	0.370	16	-0.0049	1.11	0.159	NS
2001	2	8	0.908	14	-0.0160	1.42	<0.01	..
	3	8	0.722	21	-0.0159	1.39	<0.01	..
	4	5	0.862	16	-0.0216	1.57	<0.01	..
2002	2	9	0.384	8	-0.0051	1.14	0.348	NS
	3	9	0.769	38	-0.0136	1.34	<0.01	..
	4	6	0.844	61	-0.0246	1.63	<0.01	..
2003	3	10	0.334	8	-0.0239	1.61	0.419	NS
	4	7	0.786	40	-0.0192	1.50	<0.01	..
Whole			0.753	394	-0.0150	1.38	<0.01	..

Note: .. significant at the 1% probability level
* significant at the 5% probability level
NS not significant

水温を説明変数、卵径を目的変数として、各年度、親魚群別に行った単回帰分析の結果をTable 3に示した。16例の内5例を除いて、水温と卵径の間に高い負の相関関係が認められた ($P<0.05$) (Fig. 7)。相関が認められなかった5例はG-3 (7歳)を除いて、いずれもサンプル数が少ないか、あるいは産卵期間が短く、水温範囲が狭かった。有意差の認められた11例の回帰直線について回帰直線の比較 (Snedecor and Cochran, 1988)を行ったところ、各回帰直線の回帰係数間に有意差が認められたことから ($P<0.05$)、産卵群・産卵年度において水温と卵径との回帰関係がそれぞれ異なることが示唆された。このことは同じ水温の変化でも卵径の小型化の傾向に違いがあることを示している。

産卵時刻の変化

水温と産卵時刻の関係を調べる前に、産卵時刻の推定方法の確かさを検討するために、実際に産卵を確認した58例を用いて、その時刻と実験室で卵の発生段階を調べ、採卵時の水温から推定した産卵時刻との誤差を観察時の発生段階毎に検討した (Fig. 8)。その結果、産卵後から発生が進むほどに、誤差が大きくなる傾向が認められたが、ほぼ20分前後の誤差で推定できることが確認できた。そこで、実際の産卵時刻および推定

産卵時刻を区別せず、込みにして以下の検討を行った。

水温と産卵時刻の相関および回帰を調べ、Fig. 9～12に示した。なお、親魚群G-1では1997、1998年と1999年、G-3では1998～2001年と2002、2003年の産卵時刻で2つの回帰が想定されたことから、それぞれ別々に検討した。図に示されたように、全ての産卵において、産卵時刻と水温に強い正の相関関係が認められた ($r=0.593\sim0.839$, $P<0.01$)。なお、G-1とG-3で1つの回帰を想定した時の相関係数はそれぞれ0.522と0.650でいずれも高い相関が認められた ($P<0.01$)。しかし、G-1、G-3それぞれ2本の回帰式を推定した時の残差平方和の合計は0.0279、0.0905で1本の回帰式を推定した場合の残差平方和0.122、0.359に比べて小さく、2本の回帰を想定する方が妥当であると考えられた。

考 察

産卵期間

本種の産卵期間については、生殖腺熟度指数や仔稚魚の分布から、日本の南方海域では4月下旬から5月上旬に始まり、6月中旬までが盛期で、6月下旬には産卵活動は低下し、7月には終息すると考えられる (藤

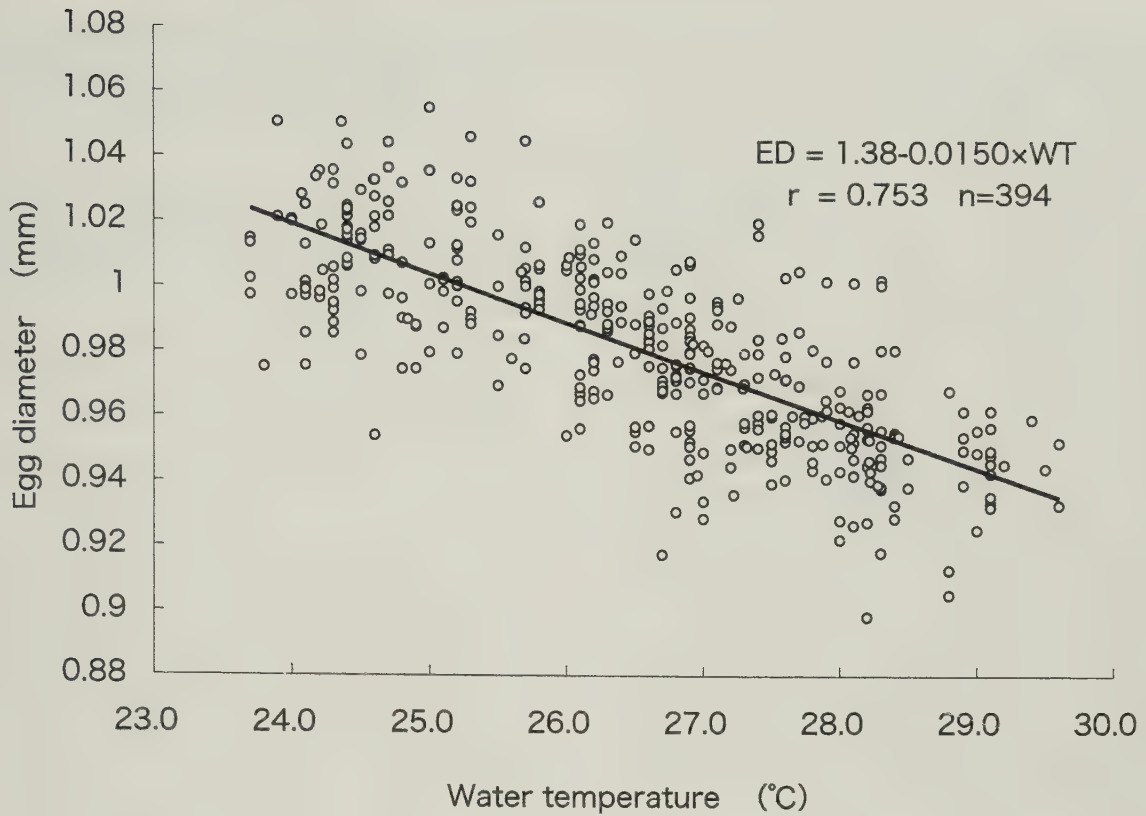


Fig. 7. Relationship between egg diameter and water temperature for bluefin tuna.

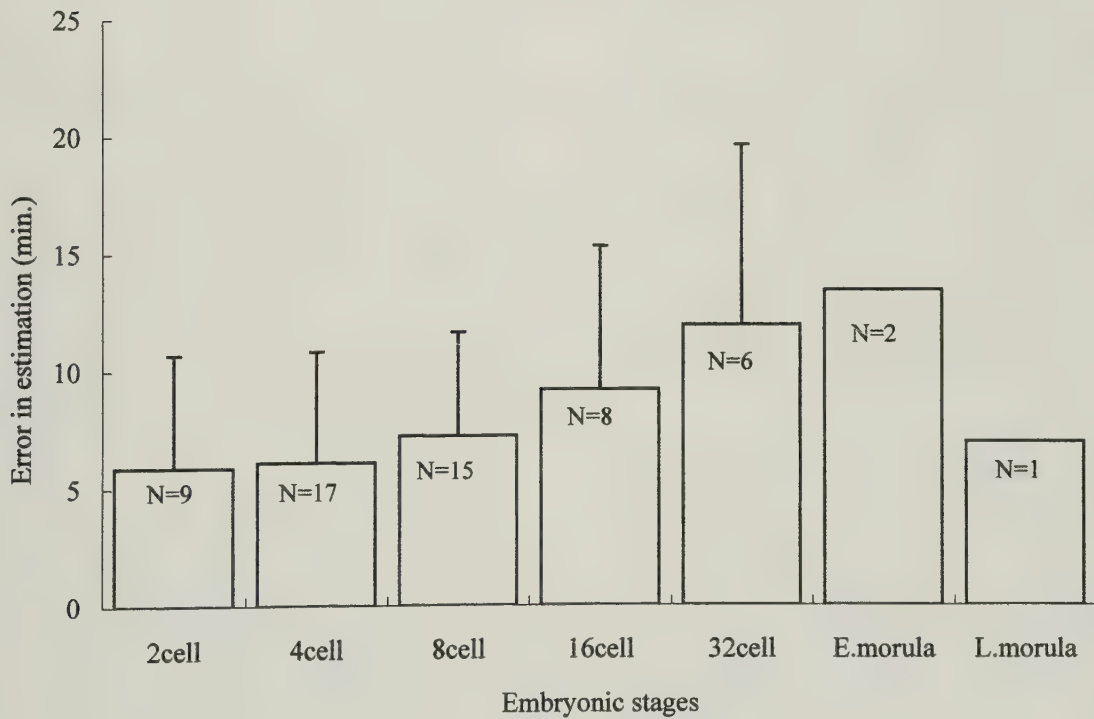


Fig. 8. Errors in estimation of spawning time at each embryonic stage observed. Vertical bars are standard deviations.

出, 1998)。また, 伊藤 (2004) は, 4~5 月に中型魚が黒潮反流域に集中して産卵した後, 6 月に急速に逸散すること, 7~8 月に日本海に來遊した中型成魚は北上しながら産卵することなどを報告している。産卵水温に関しては, 南西諸島周辺の主産卵場における表面水温は 18.6~30.0℃で仔魚の出現した水温範囲は 23.5~29.5℃, 日本海での仔魚が多く出現する水温範囲は 24~27℃であった, などの報告がある (西川, 1990)。

養成魚の産卵期間とその時の水温は, 和歌山において, 6 月 20 日から 7 月 16 日で水温 21.8~25.6℃ (原田ら, 1979), 6 月中旬から 8 月中旬までの 2 ヶ月間で 21.9~29.2℃ (宮下ら, 2000), 愛媛県宇和島において, 6 月 5 日から 8 月 25 日で 20.0~26.5℃ (遠藤, 1995), 奄美大島では 6 月 29 日から 8 月 4 日で 25~29℃で (瀬岡ら, 2004), などの報告がある。

本研究では年, 親魚群によって異なるが, 9 年間では, 5 月 13 日から 11 月 10 日に産卵が認められ, この時の水温は 23.7~29.7℃であった。産卵開始がこれまでの報告よりも早く, 終了時期は既報より 2 ヶ月以上も長かった。産卵水温は既往の天然および養成における産卵水温の報告と一致した。

天然での産卵開始水温に関する報告はないが, 南西諸島および日本海での仔魚の出現水温の下限がそれぞれ 23.5 および 24℃であることから, この値を天然での産卵開始水温とすると, 奄美での産卵開始水温とほぼ一致する。串本では 21.8℃で産卵を開始した例があり, 天然での観察や我々の結果と比べて低い (宮下ら, 2000)。しかし, 産卵は 6 月 23 日で, 奄美での産卵開始期間 (5 月 13 日から 8 月 3 日) の範囲内にあった。

産卵の開始要因について, 宮下ら (2000) は水温の上昇と光周期の長日化と考えた。また, 開始条件として, 5 月中旬に 21.5℃以上に上昇し, それより低下しない場合, 5 月に 20℃以上の水温を経験した後, 6 月に 21.5℃以上の日が 2 週間以上連続した場合, および 7 月中旬から 8 月にかけて 23℃以上を保った場合を挙げている。

本研究でも水温上昇に着目して検討したところ, 産卵開始時期, 産卵期間と 23℃からの水温上昇の状況との間に強い相関を示すことが分った。すなわち, 23℃からの水温上昇が急であるほど, 産卵開始が早まり, 産卵期間も延長し, 逆に, 水温上昇が緩慢であれば, 産卵開始時期が遅れることが示唆された。2005 年の例は, 23℃から 24℃に達した期間が 43 日と最も長く, このように長すぎる場合には, ほとんど産卵しない場合もありうることを示唆している。この年の死亡魚の卵巣観察から, 卵黄形成が進行した卵巣卵が最終成熟せずに, そのまま退行した可能性が推測された。また,

産卵期間が延長されるのは, 適切な水温上昇によって, 5 月から 6 月初旬の早い時期に産卵が始まり, 健全な成熟状態が維持されるために期間が延長されるためであろうと考えられた。

産卵の終了について, 宮下ら (2000) は産卵開始とは逆に, 水温の下降と光周期の短日化が要因であると考えた。一方, 伊藤 (2004) は耳石日輪による産卵日の推定から, 水温の下降と短日化が進んでいる 9 月以降での産卵を示唆している。本研究においても, 7 月から 8 月中旬までに産卵を終了した例があり, 他の要因の可能性も考える必要がある。

本研究では年, 親魚群別を含めて 20 例の産卵例があり, その内 7 例が 9 月以降も産卵し, 4 例は 8 月下旬まで産卵が続いた。特に, 2001 年の親魚群 G-3 では 11 月 10 日まで産卵が続いた。この時の水温は産卵を開始した水温と同じ 24.3℃であった。この結果から, 本種の産卵の終了が主に水温の下降と光周期の短日化にあることが想定されるが, 短日化要因は水温の下降要因に比べて産卵抑制への影響が弱い可能性がある。

卵径の変化

本種の卵径について, 生簀網内で養成した親魚では, 0.93~1.02mm (宮下ら, 2000), 0.95~1.05mm (遠藤, 1995), 天然の地中海クロマグロでは 0.94~1.1mm (Fritzsche, 1978) と報告されている。今回の平均卵径は 0.90~1.06mm で, やや小型の卵径も含まれるが, ほぼこれらの結果と一致した。また, これまで本種において 0.8mm サイズの卵の報告はないが, 今回の結果によって本種が 0.8mm サイズの小型卵を産卵することが示された。

多くの海産魚類において水温の変化に伴って卵径が変化することが報告されている (浅見, 1953; Imai and Tanaka, 1987; 柏木ら, 1985; Knutsen and Tilseth, 1985; Lee, 1981; Southward and Demir, 1975; 鶴田, 1992; Ware, 1977)。Imai and Tanaka (1987) は水温制御または自然条件下でカタクチイワシを飼育し, 産卵させて得た卵サイズを比較して得た結果から, 水温が卵サイズをコントロールする主要な要因であると結論付けている。クロマグロでは, 遠藤 (1995) は卵径と水温に関係を認めなかったが, 宮下ら (2000) は負の相関が見られることを報告している。今回, 宮下ら (2000) と同様に, 水温の変化に伴い卵径が変化し, 両者には負の相関関係が認められた (Fig. 7)。さらに, 産卵が 9 月以降にも見られた G-2 (7 歳), G-3 (7 歳), G-3 (8 歳) (Fig. 6) 及び G-3 (9 歳) の例では, 水温の低下により卵径が再び大きくなる傾向が認められた。この結果は, 水温が本種の卵径を決定する要因の一つであることを強く支持していると考え

えられる。Imai and Tanaka (1987) は、カタクチイワシの卵サイズが年によって異なるのは、春の水温上昇のタイミングとその大きさに関係しているのではないかと述べている。

回帰分析、回帰直線の比較の結果から、卵径と水温との関係を示す回帰係数が、親魚群、年齢、産卵年により違いのあることが示された。この結果は、卵径をコントロールするとされる水温の影響 (Imai and Tanaka, 1987) が卵径の決定 (変化) に一様に作用していないことを示唆している。卵径に影響を及ぼす要因として、各年による水温上昇のタイミングや大きさの違い (Imai and Tanaka, 1987) と共に、これまでいくつかの海産魚について報告されているように、親魚の年齢とサイズ (Bagenal, 1971; 柏木, 1989)、産卵数 (Imai and Tanaka, 1994, 1997; 柏木, 1985)、栄養状態 (靄田, 1992; Watanabe *et al.*, 1985) などとも要因の一つとして推察される。また、養成クロマグロの産卵において、個体によって産卵期間を通して産卵が継続する個体、1回から数回のみ産卵する個体など、産卵期間、産卵頻度及び産卵数に違いが見られることがミトコンドリアDNA分析から推定されている (升間ら, 2003)。このような産卵群や年度による個々の親魚の産卵パターンの違いが、同じ環境条件にありながら卵径の違いを生じさせているものと考えられる。本研究によって、多回産卵魚であるクロマグロは、卵

サイズの決定に産卵水温の影響を強く受けていることが示唆された。しかし、G-3 (7歳) のように、水温との関係が明確でなかった例もあるので、水温以外の要因についても今後検討する必要がある。

産卵時刻の変化

産卵期間中の産卵時刻についてはこれまで断片的な報告しかない (宮下ら, 2000; 遠藤, 1995)。遠藤 (1995) は日没を中心とした時刻に産卵を観察している。宮下ら (2000) も日没を挟んで約2時間前後を産卵時刻とし、暗くなってから産卵の可能性は少ないと考えた。また、奄美大島で養殖している3歳魚が12~15時の昼間産卵しているのが確認されている (山本, 私信)。天然での産卵では、地中海リバリ島東方の海域で7~11時に産卵行動が観察されている (藤田, 1998)。近縁種のメバチ *Thunnus obesus* (二階堂ら, 1991) はインド洋のジャワ沖水域、ハワイの南西水域で19:00~24:00、キハダ *T. albacares* (Schaefer, 1996) では東部太平洋のClipperton Atoll 周辺で22:30~03:30、東部太平洋全体 (Hotta *et al.*, 2001) で22:00~06:00と夜間の産卵が推定されている。マルソウダ *Auxis rochei* (新谷, 2001) では1:00~3:00と推定されている。

本研究では17:31~23:36の間で産卵が認められ、主に、G-1では18:00~21:00、G-2では21:00~23:00、G-3では18:00~19:00、20:00~22:00、G-4では

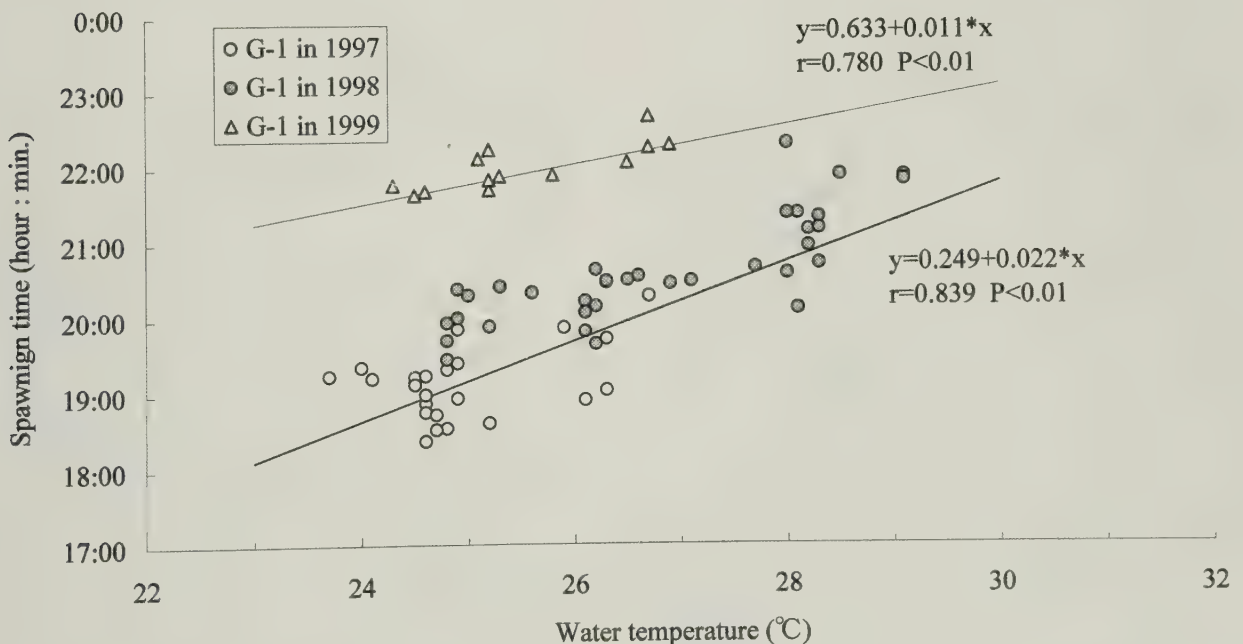


Fig. 9. Relationships between spawning time and water temperature for captive bluefin tuna in G-1.

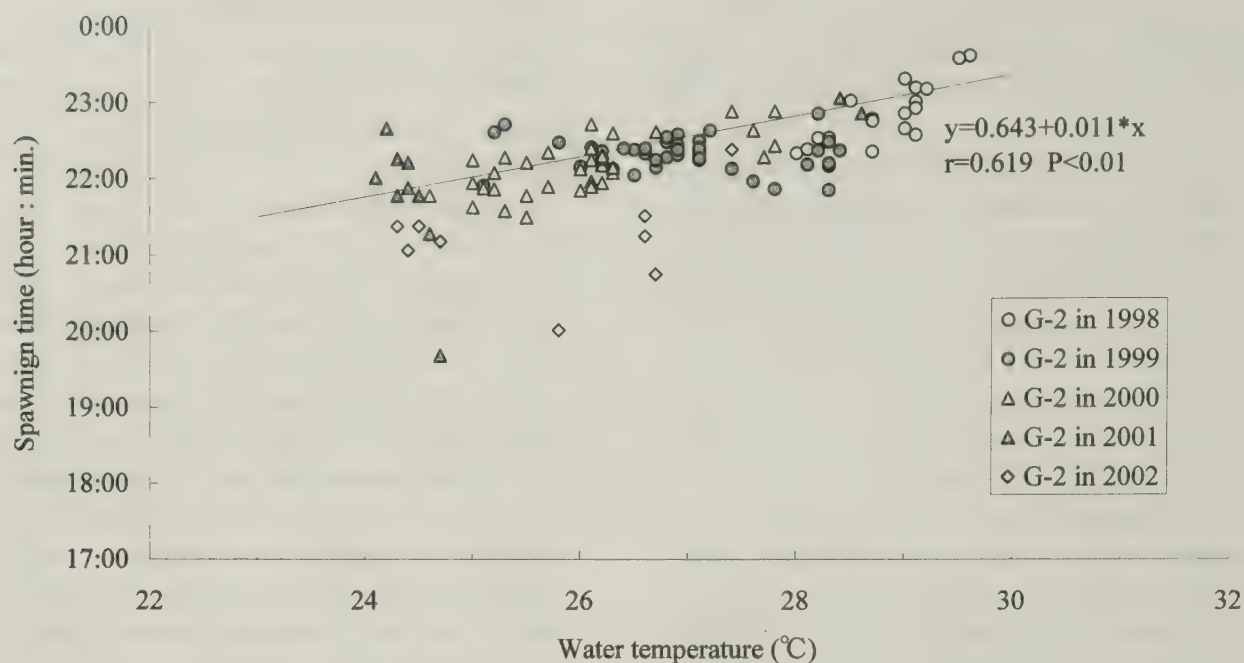


Fig. 10. Relationship between spawning time and water temperature for captive bluefin tuna in G-2.

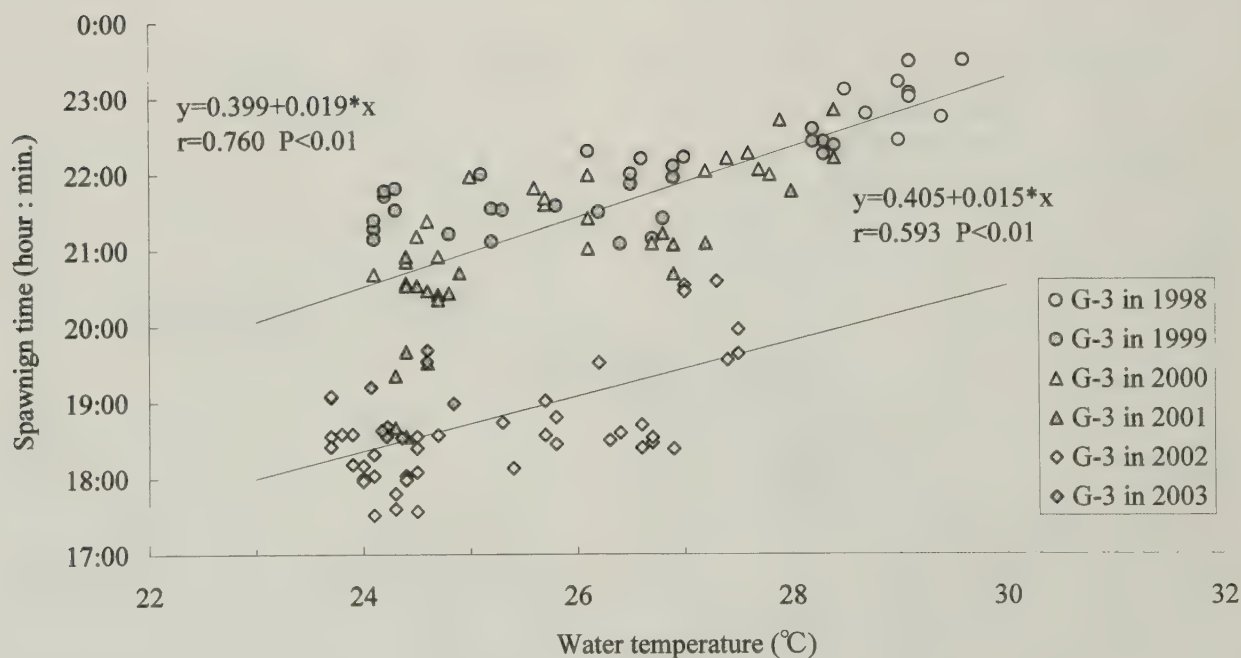


Fig. 11. Relationships between spawning time and water temperature for captive bluefin tuna in G-3.

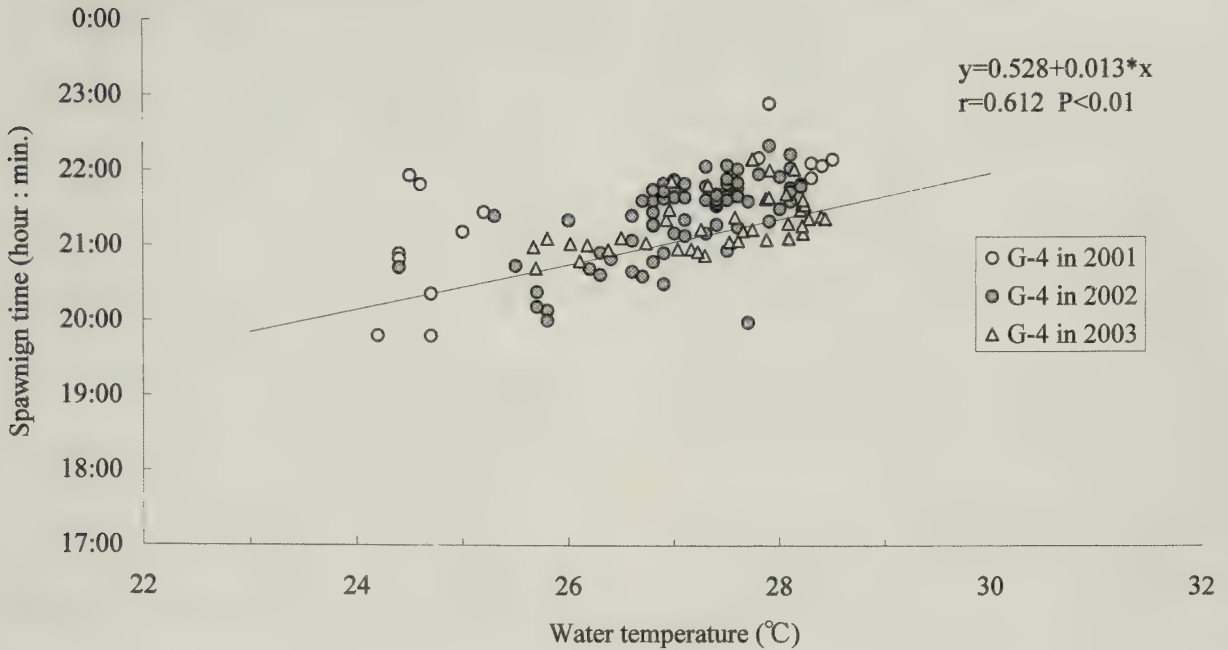


Fig. 12. Relationship between spawning time and water temperature for captive bluefin tuna in G-4.

20:30～21:30の時間帯であった (Fig. 9～12)。これらの結果はこれまでに報告されたクロマグロの産卵時間帯と一致し、さらに、メバチ、キハダのように夜間の遅い時間帯での産卵も確認された。

Kashiwagi *et al.* (1984) はシロギス *Sillago japonica* の産卵時刻の変化と水温の間に強い相関があることを報告した。古川ら (1991) は光周期を一定にし、水温を変化させてシロギスを飼育し、産卵時刻が低水温では早く、高水温では遅くなり、水温が一定では変化しないことを実験的に示し、水温と産卵時刻の関係を確認した。Hotta *et al.* (2001) もシロギスを用いて、実験的に飼育水温を上昇させ、上昇させた後の産卵時刻がその前に比べて遅れることを示し、水温が卵細胞の発達、あるいはまた、性ステロイドホルモンの産生を調節することによって産卵時刻に影響すると推察している。本種の奄美大島での産卵は水温が23.7～29.7℃の範囲で認められ、産卵期間中の産卵時刻は水温の影響を受けて変化した。産卵時刻と水温の間には一次回帰で示される強い相関が認められた。G-2とG-4では産卵時間帯に違いがあるものの毎年ほぼ同じ時間帯で産卵し、回帰直線の傾きもほぼ一致している。すなわち、産卵時間帯は違っても、水温変化に対する反応は同じであることを示唆し、今回得た回帰係数0.011～0.022 ($P < 0.01$) は本種の産卵周期と水温との関係を示す生物学的パラメーターとして捉えられるものと考えられる。一方、G-1では1997、1998年と1999年で、

G-3では1998～2001年と2002、2003年の2つの異なった傾向を示した。いずれの親魚群でも前者の年に比べて後者の年で産卵時刻が早まることが示唆された。

卵の発生と水温の情報から産卵時刻を推定する今回用いた方法は、モルラ期の卵でも20分以内の精度で推定することが可能であり、最初に産卵された卵を発見することで、その後の採卵を効率的に行う方法を提供している。

本研究によって、産卵期間、卵径および産卵時刻などの養成クロマグロの生態に養成時の水温が強く影響していることが示され、さらに、親魚養成に関して重要な情報が提供された。しかし、このように産卵が水温の影響を強く受けることは、栽培漁業にとって不可欠な安定採卵にも影響を与えることを意味し、このような中での本種の安定採卵技術の開発に向けた取り組みが今後必要となる。

謝 辞

本研究をするにあたり、クロマグロの親魚養成、採卵、資料の整理など多大なご協力を頂いた現在の奄美栽培漁業センター職員および既に転勤された職員の皆様全てに心より感謝する。(株) 拓洋の山本 宇宙社長には養殖3歳魚の産卵に関する貴重な情報を提供して頂いた。ここに厚くお礼を申し上げます。

要 旨

養成クロマグロの産卵に関して、産卵期間、卵径および産卵時刻に対する水温の影響を検討した。産卵期間は5月13日～11月10日で、既報より長く産卵が続くこと示された。また、23℃からの水温上昇が急であるほど産卵開始が早まり、産卵期間も長くなることが示唆された。平均卵径の範囲は0.90～1.06mm、最小卵径は0.83mmであった。水温と卵径の間に高い負の相関関係が認められた。産卵は17:31～23:36の間で認められ、これまでの報告になかった夜間での産卵も確認された。産卵時刻の変化は水温との間に強い相関が認められた。

キーワード: クロマグロ、産卵、卵径、産卵時刻、水温、養成

文 献

- 浅見忠彦, 1953: カタクチイワシ *Engraulis japonicus* T. et S. の浮遊卵に関する研究. 南西海区水研業績集, **1**, 1-7.
- Bagenal T. B., 1971: The interrelation of the size of fish eggs, the date of spawning and the production cycle. *J. Fish Biol.*, **3**, 207-219.
- 遠藤文則, 1995: クロマグロ種苗生産における現状-総説-. 水産増殖, **43**, 263-267.
- Fritzsche R. A., 1978: Development of fishes of the Mid-Atlantic bight. An atlas of egg, larval and juvenile stages. Vol. V. Chaetodontidae through Ophidiidae. Biological Service Program, Fish Wildl. Serv., pp.1-340. 178 figs.
- 藤田 清, 1998: マグロの種類と生態. 「マグロの生産から消費まで」(小野征一郎編), 成山堂書店, 東京, 1-49.
- 古川 清, 1991: III. 成熟・産卵リズム 5. シロギス等. 「海産魚の産卵・成熟リズム」(広瀬慶二編) 恒星社厚生閣, 東京, 65-77.
- 古川 清, 會田勝美, 吉岡 基, 佐藤英雄, 羽生 功, 1991: シロギスの産卵リズムに及ぼす光周期と水温の影響. 日水誌, **57**, 2193-2201.
- 原田輝男, 熊井英水, 村田 修, 中村元二, 岡本 茂, 乗田孝雄 1979: クロマグロの人工種苗生産の研究-I 養成クロマグロの成熟と産卵. 昭和54年度日本水産学会秋季大会講演要旨集, 1979, 85.
- Hotta K., Tamura M., Watanabe T., Nakamura Y., Adachi S., and Yamauchi K., 2001: Changes in spawning characteristics of Japanese whiting *Sillago japonica* under control of temperature. *Fish. Sci.*, **67**, 1111-1118.
- Imai C. and Tanaka S., 1994: Analysis of ovarian egg size frequency distribution of Japanese anchovy using computer graphics. *Fish. Sci.*, **60**, 695-701.
- Imai C. and Tanaka S., 1997: Effect of sea water temperature on the variability of batch fecundity of Japanese anchovy around Miura peninsula, Central Japan. *Fish. Sci.*, **63**, 489-495.
- 伊藤智幸, 2004: 太平洋クロマグロの回遊生態に関する研究. 博士論文, 東京大学, 東京.
- Imai C. and Tanaka S., 1987: Effect of sea water temperature on egg size of Japanese anchovy. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **53**, 2169-2178.
- 柏木正章, 中村総之, 岡田芳和, 山田直博, 1985. シロギスの卵径の産卵期間中の周期的変化. 水産増殖, **33**, 134-138.
- Kashiwagi M., Yamada N., Okada Y., and Nakamura F., 1984: A periodic variation of spawning time of Japanese whiting *Sillago japonica* during the spawning season. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **50**, 2135.
- 柏木正章, 1989: 発生のお化管理. 「水族繁殖学」(隆島史夫, 羽生 功 編), 緑書房, 東京, 195-238.
- Knutsen G. M. and Tilseth S., 1985: Growth, development, and feeding success of Atlantic cod larvae *Gadus morhua* related to egg size. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, **114**, 507-511.
- Lee C. S., 1981: Factors affecting egg characteristics in the fish *Sillago shihama*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **4**, 361-167.
- 井間主計, 手塚信弘, 尾花博幸, 鈴木伸明, 野原健司, 張 成年, 2003: ミトコンドリアDNA分析から推定した養成クロマグロの産卵生態. 水研センター研報, **6**, 9-14.
- 宮下 盛, 村田 修, 澤田好史, 岡田貴彦, 久保喜計, 石谷 大, 瀬岡 学, 熊井英水, 2000: 養成クロマグロの成熟と産卵. 水産増殖, **48**, 475-488.
- 二階堂英城, 宮部尚純, 上柳昭治, 1991: メバチ *Thunnus obesus* の産卵時刻と産卵多回性. 遠水研報, **28**, 47-73.
- 西川康夫, 1990: クロマグロの主産卵場. 水産技術と経営, **36**, 13-21.
- Schaefer K. M., 1998: Reproductive biology of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) in the eastern Pacific Ocean. *Inter-Am. Trop. Tuna Comm.*,

- Bull.* **21**: 201-272.
- Schaefer. K. M., 1996: Spawning time, frequency, and batch fecundity of yellowfin tuna, *Thunnus albacares*, near Clipperton Atoll in the eastern Pacific Ocean. *Fish. Bull.*, **94**, 98-112.
- 瀬岡 学, 家戸敬太郎, 村田 修, 岡田貴彦, 八木洋樹, 宮下 盛, 坂本 亘, 熊井英水, 2004 : 串本および奄美大島におけるクロマグロの産卵. 平成16年度日本水産学会大会講演要旨集, 158
- 新谷淑生, 2001 : 高知県足摺岬周辺海域におけるマルソウダの成熟周期と産卵数. 日水誌, **67**, 10-16.
- Snedecor G. W. and Cochran W. G., 1988: 回帰直線の比較. 「スネデカー・コ克蘭 統計的方法 原書第6版」, (畑村又好, 奥野忠一, 津村善郎共訳), 岩波書店, 東京, 405-408.
- Southward A.J. and Demir N., 1975: Seasonal changes in dimensions and viability of the developing eggs of Cornish pilchard (*Sardina pilchardus* Walbaum) off Plymouth, In: "The Early Life History of Fish" (ed. by Blaxter J. H. S.), Springer-Verlag, Berlin, pp. 53-58.
- 鶴田義成, 1992 : カタクチイワシの成熟・産卵と再生産力の調整に関する研究. 水工研報, **13**, 129-168.
- Ware D. M., 1977: Spawning time and egg size of Atlantic mackerel, *Scomber scombrus*, in relation to the plankton. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **34**, 2308-2315.
- Watanabe T., Koizumi T., Suzuki H., Satoh S., Takeuchi T., Yoshida N., Kitada T., and Tsukishima Y., 1985: Improvement of quality of red sea bream eggs by feeding broodstock on a diet containing cuttlefishmeal or on raw krill shortly before spawning. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **51**, 1511-1521.

サンマの成熟過程の解明：飼育実験の果たす役割

巢山 哲^{*1}, 森岡泰三^{*2}, 中屋光裕^{*2}, 中神正康^{*1}, 上野康弘^{*1}

The Study of the Maturation Process of the Pacific Saury, *Cololabis saira*: The Role of the Rearing Experiments

Satoshi SUYAMA^{*1}, Taizo MORIOKA^{*2}, Mitsuhiro NAKAYA^{*2},
Masayasu NAKAGAMI^{*1}, and Yasuhiro UENO^{*1}

Abstract To clarify the maturation process of Pacific saury, *Cololabis saira*, by surveying in the field is difficult because the hatching period extends from autumn to spring, and the life history of each individual varies depending on their hatch period. Rearing experiments are considered to be very effective for the elucidation of the maturation process, but to breed Pacific saury from eggs to adults in a rearing tank has been successfully carried out only at the Marine Science Museum, Fukushima Prefecture. We are planning to elucidate the maturation process through our rearing experiments; therefore, we reviewed past rearing experiments and field studies of the maturation process. We also introduced our rearing experiments and their objectives.

Key words: Pacific saury, maturation process, rearing experiment, spawning period

サンマ *Cololabis saira* は北太平洋の亜熱帯海域から亜寒帯海域に広く分布し (Hubbs and Wisner, 1980), 日本, ロシア, 韓国, 台湾などが漁獲を行っている (水産庁増殖推進部, 独立行政法人水産総合研究センター, 2005) 重要な浮魚資源の 1 つである。日本においてサンマは TAC 魚種に指定され, 毎年生物学的許容漁獲量 (ABC) を算出することが求められている。このために, 資源動向予測に必要な生物学的な知見, すなわち成長や成熟, 産卵特性 (初回成熟時の年齢や年齢別の産卵魚の割合, 個体別の産卵間隔および一生における総産卵数) を明らかにすることが急務である。

サンマは夏季に親潮域まで北上し, 冬季には黒潮域に南下するため (福島, 1979 など), 季節の違いによる生息環境の変化が大きい。産卵は主に 9 月から翌年 6 月に行われるが, 冬季を中心にほぼ一年中行われてい

る (Watanabe and Lo, 1989)。そのため, ふ化時期の違いは, 初回産卵の年齢や産卵回数に影響を与えていると考えられる。また, 同じ時期に同じ海域で採集された群でも, 成熟段階に個体差が見られる (小坂, 2000 など) ため, 産卵期が短い魚種に比較して個体間における成長様式や成熟特性の変異は非常に大きいと考えられる。しかし, 野外において特定の個体を追跡することはできないため, 個体ごとの生活履歴を明らかにすることは不可能である。そのため, ふ化時期や生まれた海域の違いが, その後の成長, 初回産卵時の年齢に与える影響はほとんど解明されていない。

成長に関しては, 耳石日周輪による日齢査定 (西村ら, 1985; Watanabe *et al.*, 1988; 巢山ら, 1992; Suyama *et al.*, 1996; 根本ら, 2001; Kurita *et al.*, 2004) が行われるようになり, 寿命は 2 年程度である

2006年1月6日受理 (Accepted on January 6, 2006)

^{*1} 東北区水産研究所八戸支所, 〒031-0841 青森県八戸市大字鮫町下盲久保25-259 (Hachinohe branch, Tohoku National Fisheries Research Institute, Fisheries Research Agency, 25-259, Shimomekurakubo, Same, Hachinohe, Aomori, 031-0841, Japan)

^{*2} 厚岸栽培漁業センター, 〒088-1108 北海道厚岸郡厚岸町筑紫恋2-1 (Akkesi Station, National Center for Stock Enhancement, Fisheries Research Agency, 088-1108, Japan)

こと (Suyama *et al.*, 1996) や、ふ化時期によって成長様式が異なること (根本ら, 2001; Kurita *et al.*, 2004) が明らかになっている。しかし、耳石日周輪の観察では、日齢が推定できるのはおおむねふ化後1年後まで (Suyama *et al.*, 1996) で、産卵を開始する1歳以上の個体の日齢を耳石日周輪に基づいて明らかにすることは非常に困難である。

成熟過程についても卵巣内の卵径組成 (久保, 1954; Hatanaka, 1955) や、卵巣の組織切片標本に基づく詳細な研究 (堀ら, 1969; Sato, 1981; 小坂, 2000; 巢山ら, 1996; 巢山, 2002; 栗田ら, 2002) から、多回産卵を行うことや、成熟体長が海域や時期によって異なること (栗田ら, 2002) が明らかになってきた。さらに、産卵後の個体の卵巣内には排卵後濾胞が観察されること (巢山ら, 1996; 巢山, 2002; 小坂, 2000; 栗田ら, 2002) や、産卵後には多数の閉鎖濾胞 (退行卵) が出現すること (巢山ら, 1996; 巢山, 2002; 小坂, 2000), また少なくとも一部の個体が産卵後に生き残っている可能性があること (巢山ら, 1996; 巢山, 2002) もわかってきた。このため、産卵直後は排卵後濾胞や閉鎖濾胞を、経産魚と未産魚を区別する指標として用いることができる。しかし、卵巣内に残る排卵後濾胞は数日内で消失し (栗田ら, 2002), 産卵後に現れる閉鎖濾胞もやがて完全に吸収されると考えられる (巢山, 2002)。このため、時間の経過とともに、経産魚と未産魚の区別をすることが困難になる。

飼育下でサンマを成熟、産卵させ、産卵前後に生殖腺に起こる変化や各成熟段階の進行に要する時間を明らかにすることができれば、以上の課題を解決するための重要な知見を得ることができる。さらに、異なった水温や餌条件の下で飼育をすることによって、外部環境が成長や成熟、産卵特性に与える影響を評価できる。そして、野外で採集された個体と比較することによって、サンマの成熟特性の理解が進むと期待される。しかしながら、過去に行われたサンマの飼育実験は、その多くがふ化後数ヵ月目までにとどまり、長期間飼育した記録はほとんどない。特に、卵から成魚まで飼育を行い、産卵をさせた例は、財団法人ふくしま海洋科学館による記録があるのみである (津崎, 2000a,b, 2001a,b,c)。

本稿では過去に行われてきたサンマの飼育実験を紹介する。次に、これまでに、野外あるいは飼育下で得られているサンマの成熟に関する知見の整理を行うとともに、サンマの成熟特性解明のために、飼育実験が果たす役割についても記す。最後に我々が平成16年から開始したサンマの飼育についても紹介を行う。

1. これまでに行われた飼育実験

卵発生の観察

遊佐 (1958) は、サンマの卵発生の観察は戦前から行われているものの、これらは卵発生後期の観察にとどまり、一部は他種の卵を観察した可能性もあることを述べている。Yusa (1960) は人工授精によって得られた卵を13.5~15.7℃の飼育水温で発生させ、17日目に孵化するまでの過程を詳細に記録している。また、堀田と福島 (1963) は野外で採集された卵を、5, 10, 15, 20, 25℃の計5段階の飼育水温で飼育し、孵化までの日数を推定した。孵化までの日数は、10℃で33日、25℃で8日であったが、5℃では孵化しなかった。

仔稚魚の飼育記録

前述のYusa (1960) は、観察に用いた卵を孵化させ、その後も観察を継続している。ふ化仔魚は3~4日後に卵黄を吸収したが、その後適当な餌がなかったために12日目までに全て死亡したと報告している。谷本ら (1968) は流れ藻に付着した卵を採集し、孵化仔魚をシオミズツボワムシ、アルテミア幼生、人工配合餌料およびエビの肉などを与えて、最長で70日間飼育し、47 mmまで成長させている。また、Watanabe and Kuji (1991) は宮城県沖で流れ藻に付着していたサンマ卵を採集して飼育し、定期的に標本を採集してその耳石の観察を行った。そして、孵化時に4~5本の微細な輪紋が形成されていること、そしてその輪紋が30日目までは1日1本ずつ形成されることを確認し、この輪紋が日周輪であると結論している。さらに、Oozeki and Watanabe (2000) は水温と成長の関係を調べるために、ふ化仔魚を飼育水温16, 20, 24℃の3つの水温で、ふ化後10日目および20日目の仔魚を14, 18, 22℃でそれぞれ飼育した。実験を行った水温の範囲では飼育水温が高いほど、仔稚魚の成長が速いことを示した。

幼魚期以降の飼育記録

堀田 (1958) は大謀網で採集されたサンマ幼魚をいけすに収容して、最長で80日間の飼育を行い、採集時の3月28日に体長 (=肉体長 (木村, 1956), 以下同様) の平均が11.61 cmであったサンマが、実験終了時の6月18日には平均体長が17.47 cmに達していたことを報告している。また、堀田はこの飼育中にサンマの最大摂餌量や消化に要する時間を明らかにするための実験を行い、最大摂餌重量は体重の約13%であること、摂餌後3時間では摂餌した餌の約1/3を、9~10時間後にはほぼ全てを排泄したことを報告している。

一方、福島県いわき市に開設された財団法人ふくし

ま海洋科学館（以下ふくしま海洋科学館）においては、野外で採集した卵を孵化させて成魚まで育て、水槽内で産卵させることに成功した（津崎, 2000a,b, 2001a,b,c）。さらに、水槽内で得られた卵も孵化させて成魚まで飼育を行い、水槽内での完全飼育を成し遂げた。これらのサンマは現在まで継代飼育されているが、展示用の魚を常に確保するために必要な時に卵を得ることを目的として、世代あるいは水槽別に水温条件を変えて飼育を行っている（津崎, 2001c）。水温19℃以上の高水温で飼育を続けた場合（Fig. 1, Expt-3）では、約半年で産卵を開始し、産卵開始時の全長は25cm（肉体長に換算すると約23.4 cm（木村, 1956）以下であった（津崎*, 私信）。一方、ふ化後3ヵ月目頃から飼育水温を10~12℃に下げると半年後も産卵せずに成長を続け、その後に飼育水温を17℃以上まで徐々に上昇させると、昇温開始1ヵ月から3ヵ月後に産卵した（Fig. 1, Expt-1, 2）。このように、サンマの成長や初回産卵は飼育水温によって大きく変化することが飼育下で証明された。

栗山と津崎（2004）は、Fig. 1におけるExpt-1で飼育されたサンマのうち30個体について、光学顕微鏡および電子顕微鏡で耳石を観察した。光学顕微鏡では、野外で採集される個体で年輪とされる透明帯（栗山と桜井, 2000）が観察された（Fig. 2-A）。電子顕微鏡に

よる観察では、7個体で耳石中心（核）から131~170本の日周輪状の微細輪紋が見られたが、その外側では輪紋が不明瞭になるために計数ができなかった。また、耳石核から輪紋が不明瞭になる位置までの距離と、光学顕微鏡で観察された透明帯の半径はほぼ一致した。Expt-1では孵化から140日目まで飼育水温を16℃以上に設定し、その後30日間で11℃以下まで下げている。この微細輪紋を日周輪と仮定した場合、16℃以上の飼育水温では輪紋が形成されていたが、飼育水温の低下に伴い微細輪紋も不明瞭になり透明帯が形成されたと考えられた（Fig. 2-B）。

2. これまでに得られた成熟に関する知見

性成熟に伴う生殖腺の発達については、生殖腺重量の季節変化や組織切片の標本観察に基づいて詳しく調べられている。卵巣中の卵母細胞は卵黄が蓄積されるとともに卵径を増し、この時に生殖腺重量の急激な増加が起こる（小坂, 2000; 栗山, 2002）ことが分かっている。卵母細胞中に卵黄が出現しはじめると、まもなくそれらは融合を開始し卵黄塊を形成するため、核の偏在が早くから起こることが特徴（栗山ら, 1996; 栗山, 2002; 小坂, 2000）である。このような卵黄形成

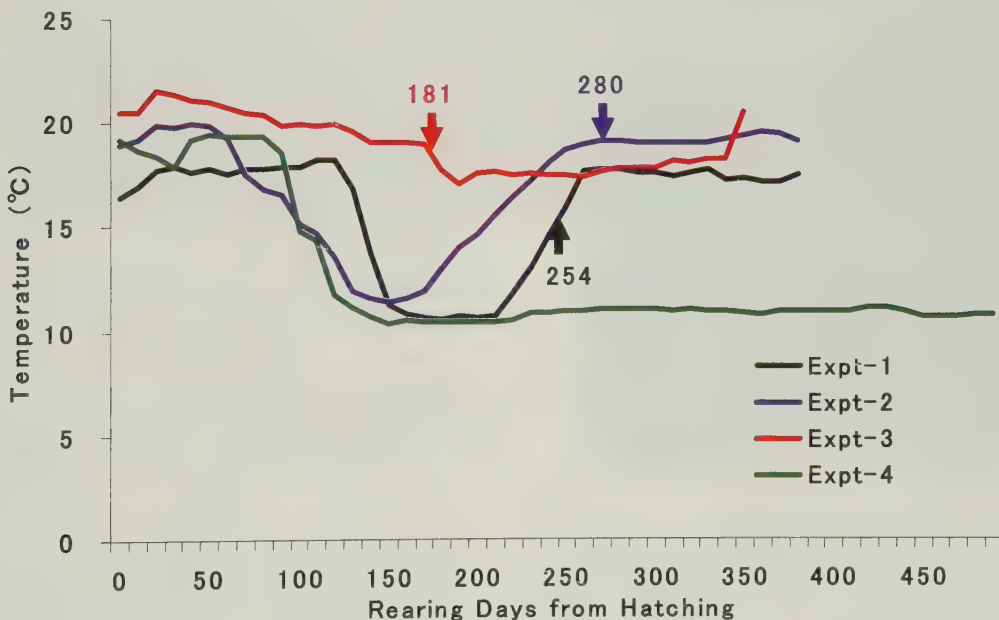


Fig. 1. Age in days at which the first spawning occurred in different ambient temperatures for Pacific saury under rearing experiments in Marine Science Medium, Fukushima Prefecture. Arrows and numbers show the ages in days at which the first spawning occurred in each experiment. Fish did not spawn in experiment-4.

過程はメダカ *Oryzias latipes* (Yamamoto and Yoshioka, 1964) やグッピー *Poecilia reticulata* (Takano, 1964) で知られている。卵黄蓄積の開始から産卵まで、どれくらいの時間がかかるかを、野外において検証するのは難しい。飼育下では水温を10℃台から徐々に上げることにより、水温上昇開始後1月あまりで産卵を行っている (津崎, 2003c)。野外においては表面水温12℃以下では、卵黄形成中の個体が採集されていない (小坂, 2000; 巢山, 2002) ので、飼育下においても11℃以下の低水温下では卵黄の蓄積が起きていたとは考え難い。従って、卵黄蓄積の開始は水温を上昇させた後に開始したと考えられ、成熟開始から産卵までは1月程度であったと推定される。野外においても、卵黄球を蓄積開始した個体が多く採集される

のは産卵期が始まった10月以降であり、卵黄の形成から産卵にいたる期間はごく短いものと考えられる。しかし、水温によって成熟の進行がどのように変化するかは分かっていない。

野外における産卵行動の観察としては、池原 (1999) が石狩湾において水中カメラを用いて行った記録がある。産卵は数尾から10数尾の群れで行われることや、産卵に要する時間は10分程度であることが報告されている。一方、津崎 (2001c) は飼育下での産卵行動を観察しており、繁殖活動が盛んな時には親魚は雌雄ともに尾鰭の基部付近が山吹色に変化すると述べている。三重県沖で流れ藻の周りで産卵しているサンマを観察した例 (山田*, 私信) では、尾鰭の基部が黄色く見える個体と変化していない個体が混泳しており (Fig. 3), 尾鰭基部の体色変化によって産卵中の個体を識別できる可能性がある。

サンマは1産卵期に複数回産卵を行う多回産卵型であることが、卵母細胞の卵径組成や卵巣の組織標本の観察によって明らかになっている (久保, 1954; Hatanaka, 1955; 堀ら, 1969; Sato, 1981; 巢山ら, 1996; 巢山, 2002; 小坂, 2000)。野外における産卵間隔については、栗田ら (2002) が排卵直後の濾胞の出現に基づき2.9~5.6日と見積もっている。一方、飼育下の観察では数日おきに3~4ヵ月間産卵が続いたと報告されているが (津崎, 2003), 個体識別を行っていないために個体別の産卵頻度と産卵継続期間はわからない。

排卵後の個体には排卵後濾胞が観察されるが、他の浮魚類 (Hunter and Macewicz, 1985) と同じくその吸収・消失は早いと考えられる。サンマでは排卵後濾胞が完全に吸収されるまでの日数は産卵間隔より短いので、通常の組織切片の観察によって排卵後濾胞を指標に産卵回数を推定することは不可能である。産卵期が終わると、他の多回産卵を行う魚種と同じように卵巣に閉鎖濾胞が観察される (巢山ら, 1996; 小坂, 2000)。閉鎖濾胞は卵黄蓄積が始まった卵母細胞からの閉鎖濾胞と、卵黄蓄積前の卵母細胞からの閉鎖濾胞に区別でき (巢山ら, 1996; 巢山, 2002), 前者は経産魚の指標になると考えられるが後者については産卵終了とともに生じたものと、産卵に関係なく生じたものがあるようである。また、卵黄蓄積が始まった卵母細胞からの閉鎖濾胞は吸収が早いので、経産魚の指標として使える期間は限られる。漁期はじめの9月には閉鎖濾胞を持つ個体の割合は非常に低いため (巢山, 2002), 6月頃までにはほとんどの個体が産卵を終了したと考えられ、その後3ヵ月以内に閉鎖濾胞がほぼ消失すると推定さ

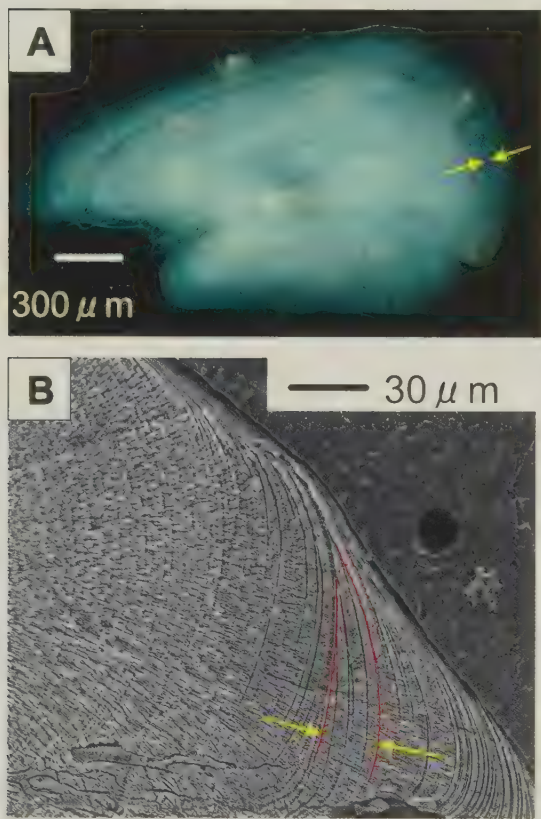


Fig. 2. Otolith of the Pacific saury reared in experiment-1 (see fig.1). A, Light microscope photograph of the otolith of a Pacific saury (Body length = 30.5cm). Arrows show the hyaline zone that formed when ambient water temperature was less than 12℃. B, Scanning electron microscope photograph of the otolith of the same individual as in A. Arrows show the area that corresponds to the hyaline zone. Growth increments were not observed in this area.

* 山田浩且 三重県科学技術振興センター水産研究部 志摩市浜島町浜島3564-3



Fig. 3. Spawning fish observed off Mie prefecture in 23 Apr. 2005, at 34-03.5°N, 136-58.9, °E (by K. Yamada, Fisheries Research Division, Mie Prefectural Science and Technology Promotion Center). Arrows show the spawning fish in which the base of the caudal fin has changed to yellow.

れる。従って、8月以降の漁期中に採集されるサンマについて、閉鎖濾胞に基づいて経産魚と未産魚の区別はできないと考えられる。また、卵黄蓄積前の卵母細胞からの閉鎖濾胞については、産卵との関係も明らかになっていない。排卵後濾胞および閉鎖濾胞の吸収に要する過程と特徴およびその期間が明らかになれば、野外においても経産魚と未産魚を明確に区別できる指標を得ることができ、閉鎖濾胞を指標とした産卵終了後の経過時間が明らかになると期待される。

3. 飼育下と野外における生態の違い

飼育実験下で得られた知見は野外における生態の解

明につながると期待されるが、その一方で飼育下においては野外と異なる現象もいくつか見られた。

まず、飼育下における成熟体長は、野外より小さかった。ふくしま海洋科学館での飼育結果では、19℃以上で飼育を継続した場合では、体長が25cmに達する前に産卵を開始していた。一方、野外において産卵を行っている個体は一般的に27cm以上とされ、20cm前後で産卵するのは日本海や駿河湾の定置漁場（堀田, 1960）、冬季の黒潮域など（栗田ら, 2002）などのごく限られた海域から報告されているのみである。飼育下においては回遊を行わないため一定の高水温で過ごしたために成熟体長が変化した原因の一つと考えられるが、餌条件など他の要因の影響は明らかにされていない。

次に、透明帯の形成は、野外において10月から2月に起こるとされる（巢山と桜井, 2000）。サンマは夏季にはおおむね15℃未満の海域に、冬季には15℃以上の海域に移動するため、透明帯は低水温域から高水温へと回遊した時に形成される。一方、飼育下のサンマ透明帯は16℃以上の飼育水温を11℃以下に下げた後に形成されたと考えられたことから、野外における結果と対照的である。

以上の違いは水温以外の環境、例えば餌条件などの違いが考えられる。飼育下では常に十分な給餌が行われているが、野外では初夏の親潮域では低水温下であるものの餌となる動物プランクトンが豊富であるが、南下回遊後の黒潮域では高水温で動物プランクトンが少ない。このような環境変化が飼育下と野外の生態の違いを生じる原因となっていると考えられ、飼育実験下で成長や成熟の実験を行う場合は水温以外の条件も重要であることを示唆している。

4. 今回の飼育実験の目的

飼育実験下では、同一の条件下で飼育した群れの成長や成熟過程を観察することができるため、各成熟段階の進行に要する時間や、1個体の産卵がどれくらいの頻度でどれくらいの期間継続するかなどの基礎的な知見が得られると期待される。さらに、閉鎖濾胞の消失過程を明らかにすることによって、これを基準とした経産魚の識別ができる期間が明らかにできる。これらの情報は、年齢別の産卵魚の比率を推定する上で重要である。また、水温以外の外部条件、例えば投餌量の変化が、成熟にどのような影響を与えているかを調べることによって成熟、産卵に必要な条件を明確にできれば、外部環境の変化が成熟魚の割合や産卵の継続期間にどのような影響を与えるかをシミュレーションすることも可能であろうと考えている。

これまで行われてきた生殖腺の組織切片標本に基づく研究は、卵巢重量だけではわからない成熟途上の個体と産卵後の個体を区別したり、排卵後濾胞によって産卵頻度を推定する上で有効であった。しかし、組織切片標本上の生殖腺の変化は、真の意味での成熟開始からやや遅れて発現するものである。成熟開始の引き金となる外部環境要因や栄養状態などの内部要因を明らかにするためには、さらに早い段階で成熟開始の兆候を把握する必要がある。近年では他の魚種で成熟に伴う内分泌物質の支配器官や内分泌物質の挙動が明らかになってきており、脳下垂体からの生殖腺刺激ホルモンの分泌や卵黄蛋白の前駆物質の合成開始など、成熟時のごく初期における変化も明らかになりつつある。

サンマにおいてもこうした変化が明らかになれば、これまで卵母細胞への卵黄蓄積でしかわからなかった成熟の開始をより早い段階で把握できると考えられ、成熟開始に必要な条件を知る手がかりになる。そのため水槽内で成熟開始から産卵、産卵後に至る内分泌支配器官とそれに伴う内分泌物質の変化を明らかにし、野外において採集された標本との比較を行いたいと考えている。

サンマにおいては低次生態系モデルと魚類生物エネルギーモデルを結合させることにより構築されたNEMURO. FISHモデルが開発されており（Ito *et al.*, 2004）、サンマの成長を正確に再現できるようになっている。しかし、呼吸量、代謝量などのパラメータは他魚種で得られた値を利用しているため、サンマの固有値を飼育実験で明らかにすることできれば、さらに精度を上げることができる。さらにこのモデルに資源尾数の変動モデルを組み合わせることによって、資源変動要因の解明や資源管理への応用も期待されているが、個体ごとの産卵数、産卵期間および産卵頻度やこれらに外部環境が及ぼす影響は必要不可欠なパラメータである。

平成16年から、水産総合研究センター東北区水産研究所と栽培漁業部厚岸栽培漁業センターは共同で、サンマの飼育を開始した。平成16年は6月～7月に宮城県沖で流れ藻に付着したサンマ卵を採集し厚岸栽培漁業センターの飼育施設に搬送したが、未受精の卵が多く孵化しなかった。また、8月には、北海道道東沖でサンマ卵を採集し飼育を行ったが、33日後までに全て死亡した。平成17年は4月21日から23日には三重県沖において流れ藻に付着したサンマ卵27万粒を飼育施設に輸送することができた。これらは9月8日現在で約2,800個体が生残しており最大の個体は17cmを超え、今後水槽内で産卵することが期待されている。今回の飼育実験によって、資源変動要因の解明に必要な知見を得られることを期待している。

謝 辞

サンマの飼育にあたり、ふくしま海洋科学館の津崎順氏には、飼育技術について懇切な指導をして頂き、飼育データや飼育したサンマを提供頂いた。宮城県水産研究開発センター永島宏氏、東京都島嶼農林水産総合研究センター米沢純爾氏および安藤和人氏、三重県科学技術振興センター水産研究部山田浩且氏および調査船あさまの船長および乗組員各位、和歌山県農林水産総合技術センター水産試験場武田保幸氏、中地良樹氏および北海道区水産研究所深海丸の本間盛一船長以

下乗組員の皆様には、サンマ卵の採集に多大なご協力をして頂いた。また、三重県科学技術振興センター水産研究部山田浩且氏には卵の採集時に撮影した写真を提供して頂いた。青森県三戸地方農林水産事務所八戸水産事務所涌坪敏明氏、岩手県水産技術センター清水勇一氏、静岡県水産試験場近藤 優氏、三重県科学技術振興センター水産研究部藤田弘一氏からは、サンマ卵や成熟親魚について、出現情報の提供や採集に関する助言を頂いた。以上、記して感謝申し上げます。

文 献

- 福島信一, 1979: 北西太平洋系サンマの回遊機構の綜観的解析. 東北水研報, **41**, 1-70.
- Hatanaka M., 1955: Biological studies on the population of the saury, *Cololabis saira* (Brevoort) Part 1 Reproduction and growth. *Tohoku J. Agr. Res.*, **6**, 227-312.
- 堀 義彦, 高橋 惇, 田村和子, 1969: 終漁期のサンマについて. 茨城県水試報告, 昭和43年度, 9-17.
- 堀田秀之, 1958: 飼育実験によるサンマの成長について. 東北水研報, **11**, 47-64
- 堀田秀之, 1960: 鱗・耳石によるサンマのポピュレーション構造の分析とその成長. 東北水研報, **16**, 41-64.
- 堀田秀之, 福島信一, 1963: 東北海区に於けるサンマ資源の数量変動に関する研究. 東北水研報, **23**, 61-72.
- Hubbs C. L. and Wisner R. L., 1980: Revision of the sauries (Pisces, Scombersocidae) with descriptions of two new genera and one new species. *Fish. Bull. U.S.*, **77**, 521-566.
- Hunter J. R., and Macewicz B. J. , 1985: [多回産卵魚における産卵頻度の算定 R. Lasker 編, 渡邊良朗, 辻 祥子 共訳, 総産卵量による浮魚類の資源推定法—北米カタクティワシへの適用—, 147-148, 東北区水産研究所 (1989)]
- 池原宏二, 1999: 日本海の流れ藻に産卵するサンマの産卵行動. 平成11年度日本水産学会春季大会要旨集, p.70.
- Ito S., Kishi M. J., Kurita Y., Oozeki Y., Yamanaka Y., Megrey B. A., and Werner F. E., 2004: Initial design for a fish bioenergetics model of Pacific saury coupled to a lower trophic ecosystem model. *Fish. Oceanogr.*, **13**(Suppl. 1), 111-124.
- 木村喜之助, 1956: 標準体長として測るべき魚体の部位に就いて. 東北水研報, **7**, 1-11.
- 小坂 淳, 2000: 北西太平洋におけるサンマの生活史とそれに基づく資源変動の考察. 東北水研報, **63**, 1-96.
- 久保雄一, 1954: 太平洋産サンマ *Cololabis saira* (Brevoort) の生態学的研究-II 生殖腺について. 茨城県水試研報 (昭和25・26年度), 87-97.
- 栗田 豊, 巢山 哲, 上野康弘, 2002: 環境変動に対するサンマの繁殖特性の応答. 我が国周辺海域における漁業資源の変動予測技術の開発—環境変動が生物生産力と漁業資源に及ぼす影響の解明—, 農林水産技術会議事務局編, 研究成果第402集, 農林水産技術会議事務局, 東京, pp.60-63.
- Kurita Y., Nemoto Y., Oozeki Y., Hayashizaki K., and Ida H., 2004: Variations in patterns of daily changes in otolith increment widths of 0+ Pacific saury, *Cololabis saira*, off Japan by hatch date in relation to the northward feeding migration during spring and summer. *Fish. Oceanogr.*, **13** (suppl-1), 54-62.
- 根本 豊, 栗田 豊, 大関芳冲, 本間隆之, 林崎健一, 井田 齋, 2001: サンマ耳石微細輪紋の形成様式. 東北水研報, **64**, 69-78.
- 西村 明, 渡辺良朗, 山田寿郎, 1985: サンマ耳石の日周輪様微細輪紋構造. 東北水研報, **47**, 33-35.
- Oozeki Y. and Watanabe, Y., 2000: Comparison of somatic growth and otolith increment growth in laboratory-reared larvae of Pacific saury, *Cololabis saira*, under different temperature conditions. *Mar. Biol.*, **136**, 349-459.
- Sato M., 1981: Some considerations on the "North to south turning migration" mechanism of the Pacific saury, *Cololabis saira* (Brevoort). *Res. Inst. N. Fish., Hokkaido Univ.*, **Spe. vol.**, 73-78.
- 水産庁増殖推進部, 独立行政法人水産総合研究センター, 2005: 我が国周辺水域の漁業資源評価 第一分冊, 水産庁増殖推進部, 水産庁独立行政法人水産総合研究センター編, 495pp.
- 巢山 哲, 桜井泰憲, 島崎健二, 1992: 中部北太平洋におけるサンマ *Cololabis saira* の耳石日周輪に基づく年齢と成長の推定. 日水誌, **58**, 1607-1614.
- Suyama S., Sakurai Y., and Shimazaki K., 1996: Age and growth of Pacific saury *Cololabis saira* (Brevoort) in the western North Pacific Ocean estimated from daily otolith growth increments. *Fish. Sci.*, **62**, 1-7.
- 巢山 哲, 桜井泰憲, 島崎健二, 1996: 夏季の中部北太平洋におけるサンマの成熟と日齢について. 日水誌, **62**, 361-369.
- 巢山 哲, 桜井泰憲, 2000: 西部北太平洋におけるサン

- マの耳石透明帯の形成時期. 東北水研報, **63**, 97-108.
- 巢山 哲, 2002: 北太平洋におけるサンマ *Cololabis saira* (Brevoort) の年齢, 成長および成熟に関する研究. 水研センター研報, **5**, 68-113.
- 巢山 哲, 津崎 順, 2004: アクアマリンふくしまで飼育されたサンマの耳石日周輪について. 第52回サンマ等小型浮魚資源研究会議報告, 224-228.
- Takano K., 1964: On the egg formation and the follicular changes in *Lebistes reticulatus*. *Bull. Fac. Fish., Hokkaido Univ.*, **15**, 147-155.
- 谷本尚則, 中村和夫, 松岡正義, 1968: 海産魚類の種苗生産技術試験-I. 徳島水試事業報告, 30-37.
- 津崎 順, 2000a: サンマの飼育と展示-I. AMF NEWS, **2(2)**, 2-3.
- 津崎 順, 2000b: サンマの飼育と展示-II. AMF NEWS, **2(3)**, 1-2.
- 津崎 順, 2001a: サンマの飼育と展示-III. AMF NEWS, **3(1)**, 1-2.
- 津崎 順, 2001b: サンマの飼育と展示-IV. AMF NEWS, **3(2)**, 1-2.
- 津崎 順, 2001c: サンマの飼育と展示.
<http://www.marine.fks.ed.jp/frame.html>
- Watanabe Y., Butler J. L., and Mori T., 1988: Growth of Pacific saury, *Cololabis saira*, in the Northwestern and northeastern Pacific Ocean. *Fish. Bull. U.S.*, **88**, 489-498.
- Watanabe Y. and Lo C. H., 1989: Larval production and mortality of the Pacific saury *Cololabis saira*, in the Northwestern Pacific Ocean. *Fish. Bull. U.S.*, **87**, 601-613.
- Watanabe Y. and Kuji Y., 1991: Verification of daily growth increment formation in otolith by rearing larvae from hatching. *Jpn. J. Ichthyol.*, **38**, 11-15.
- Yamamoto K. and Yoshioka H., 1964: Rhythm of development in the oocyte of the medaka, *Oryzias latipes*. *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.*, **15**, 5-19.
- 遊佐多津雄, 1958: サンマとサヨリの魚卵と稚魚の主な相違点について. 北水試月報, **15**, 249-256.
- Yusa T., 1960: Embryonic development of the saury *Cololabis saira* (Brevoort). 東北水研報, **17**, 1-14.

水産総合研究センター研究報告 別冊4号
Bulletin of Fisheries Research Agency Supplement No.4

編集責任者：清水昭男

平成18年3月31日 発行

発行所 独立行政法人 水産総合研究センター
〒220-6115 神奈川県横浜市西区みなとみらい2-3-3
クイーンズタワー B15階
Fisheries Research Agency
Queen's Tower B 15F, 2-3-3, Minato mirai, Nishi-ku, Yokohama,
Kanagawa 220-6115, Japan
<http://www.fra.affrc.go.jp>

発行者 川口恭一

印刷所 株式会社 シーケン

ISSN 1346-9894

Application of physiological and biochemical methods to the advanced study of reproductive biology in resource fishes Akio SHIMIZU	63
Reproduction and GnRH in teleost fish Masafumi AMANO	71
Puberty in teleost Koichi OKUZAWA	75
Session 4: Estimation of reproductive traits for stock assessment	
Procedures to estimate reproductive traits of fish by combining field surveys and tank experiments Yutaka KURITA	87
A review of the reproductive studies for chub mackerel in relation to the stock assessment. Chikako WATANABE	101
Session 5: Reproductive biology of various resource fishes	
Reproductive biology of Japanese jack mackerel <i>Trachurus japonicus</i> and Japanese sardine <i>Sardinops melanostictus</i> Hiroshi NISHIDA	113
Maturation of the spotted mackerel <i>Scomber australasicus</i> in the waters off Ashizuri Cape, Pacific coast of southern Japan, with reference to the habitat water temperatures Kazuya NASHIDA and Takumi MITANI	119
Reproductive biology of yellow sea bream <i>Dentex tumifrons</i> Michio YONEDA and Mari YODA	125
Spawning ecology of tiger puffer, <i>Takifugu rubripes</i> . Rena SHIBATA, Hideaki AONO, and Masaharu MACHIDA	131
Reproductive biology of Pacific cod, a review especially referring to interannual variations of biomass, age and size at maturity and fecundity Yoji NARIMATSU	137
Session 6: Broodstock rearing of resource fishes	
A concrete example for rearing broodstock of pacific cod (<i>Gadus macrocephalus</i>) Nobuhiro TEZUKA	147
A Review on spawning under captive condition in Japanese horse mackerel <i>Trachurus japonicus</i> Masakazu OKA, and Koh-ichirou MORI	151
Effects of water temperature on bluefin tuna spawning biology in captivity Shukei MASUMA, Nobuhiro TEZUKA, Masahiko KOISO, Tadao JINBO, Takayuki TAKEBE, Hideo YAMAZAKI, Hiroyuki OBANA, Kentarou IDE, Hideki NIKAIIDO and Hitoshi IMAIZUMI	157
The study of the maturation process of the Pacific saury, <i>Cololabis saira</i> : the role of the rearing experiments Satoshi SUYAMA, Taizo MORIOKA, Mitsuhiro NAKAYA, Masayasu NAKAGAMI, and Yasuhiro UENO	173

BULLETIN OF FISHERIES RESEARCH AGENCY

Supplement No.4
March 2006

Bull.Fish.Res.Agen.

CONTENTS

Special issue: Reproductive properties and environmental effects on reproduction in resource fishes

Preface

Session 1: Effects of water temperature on sexual differentiation and reproduction in fishes.

Environmental regulations of reproductive cycles in teleosts

Akio SHIMIZU 1

Relationship between environmental temperature and sex differentiation in fish

Michiaki YAMASHITA and Nanami KAWAGUCHI 13

Morphological and physiological studies on sex differentiation and sex change in coral reef fish

Masaru NAKAMURA, Yasuhisa KOBAYASHI, and Saori MIURA 19

Mechanism of gonadal sex differentiation in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*)

Takeshi KITANO 27

Session 2: Experimental analysis of environmental effects in resource fishes

Effects of environmental condition on growth and reproduction of Atlantic cod, *Gadus morhua*

Michio YONEDA 31

Planning of egg stock assessments according to reproductive characteristics of Japanese anchovy

Yoshinari TSURUTA 41

Special contribution: Memories of experimental studies on Japanese sardine reproduction

Manabu SHIRAISHI 49

Session 3: Reproductive physiology and its application

Application of reproductive physiology to the advanced study of stock productivity of small pelagic fishes

Michiya MATSUYAMA 51